LE BOTANISTE

Ser. XXI

1929

RECHERCHES CYTOLOGIQUES
sur
la Famille des Péronosporées
Étude spéciale de la reproduction sexuelle

INTRODUCTION

Arrivé au terme que nous nous étions assigné dans ces recherches, nous devons tout d'abord témoigner à M. le professeur Dangeard notre profonde reconnaissance pour l'aide bienveillante et les conseils qu'il n'a cessé de nous prodiguer.

Nous nous faisons également un plaisir de remercier M. Foex Directeur de la Station de Pathologie végétale ; M. Arnaud, Sous-directeur et M. Ducomet, professeur à l'école d'Agriculture de Grignon, pour l'amabilité avec laquelle ils nous ont fourni de nombreux matériaux d'étude.

Encore assez peu familiarisé avec la langue française, nous avons dû avoir recours fréquemment, pour exprimer exactement et correctement nos idées au dévouement de nos amis et camarades du laboratoire de Botanique, Mrs Kühner, Gavaudan, Clémencet, ainsi qu'à un jeune mycologue M. Boursier ; nous leur exprimons ici toute notre affectueuse gratitude.

L'Institut franco-chinois de Lyon dont la généreuse subvention a permis l'achèvement de ce Mémoire nous a rendu un immense service que nous n'oublierons pas et dont nous

remercions vivement ses Directeurs : nous rendons hommage à l'œuvre que cet Institut poursuit, en faveur de nos compatriotes avec tant de sollicitude et de succès.

Le plan de ce Mémoire comprend :

1° Un historique général.

2° Quelques indications sur la technique employée.

3° La description des espèces étudiées : *Cystopus candidus, Cystopus Bliti, Cystopus Portulacae, Cytopus Tragopogonis Peronospora effusa.*

4° L'exposé des principaux résultats obtenus sous le titre de « Conclusions ».

5° La liste des principaux ouvrages cités dans ce Mémoire : certains d'entre eux contiennent déjà une bibliographie complète, à laquelle on pourra toujours se reporter.

6° L'explication des 16 planches qui accompagnent ce travail. La terminologie adoptée est celle qui a été proposée par P. A. Dangeard (8) et (9).

HISTORIQUE GÉNÉRAL

On n'avait aucune indication sur le sort des noyaux dans la reproduction sexuelle des Oomycètes avant le mémoire de Fisch (14) qui admettait que, lorsqu'il y a reproduction sexuelle, le noyau mâle se fusionne avec le noyau femelle (*Pythium, Cystopus*) : les recherches qui ont suivi ont prouvé que les choses ne se passent pas d'une façon aussi simple.

Chmilewsky, a propos des *Cystopus* indiquait, à tort d'ailleurs, que l'oogone jeune ne contient qu'un très gros noyau : l'anthéridie elle aussi ne posséderait qu'un seul noyau ; la fusion n'a pas été vue ; l'oospore mûre, ne renferme qu'un noyau ; en réalité, ce prétendu noyau n'était autre chose que le gros corpuscule central qui a donné lieu à tant de discussions.

Les premiers renseignements, dont il y a lieu de tenir compte, encore bien incomplets cependant, sont dus à Wager [33] qui consacre en 1889 un mémoire à l'étude du *Peronospora* des Crucifères : il montre que l'oogone et l'anthéridie sont multinucléés, que ces noyaux subissent une mitose et que l'oosphère, au moment de la fécondation, ne contient qu'un noyau. Puis vient en 1890, un mémoire de P. A. Dangeard [5] qui examine au point de vue cytologique un grand nombre d'espèces et de genres : ce travail renferme quantité d'observations nouvelles pour l'époque et pose des problèmes dont on attend encore la solution, en particulier celui de la nature du gros corpuscule chromatique qui occupe le centre des oosphères ; mais il étend la notion de structure plurinucléée vue par Wager, dans les oogones et les anthéridies de

Peronospora parasitica aux *Cystopus candidus* et *cubicus* et au *Plasmopara densa* ; en outre, il fait cette remarque intéressante que dans le *Plasmopora densa,* lorsque le protoplasma se concentre au milieu de l'oogone pour fournir l'oosphère, on aperçoit deux noyaux rapprochés ; les autres sont restés dans le périplasme ; il refuse toutefois de se prononcer sur la nature de la fécondation elle-même.

Ce n'est qu'en 1896 que Wager [35] aborde avec succès cette question de la fécondation dans le *Cystopus candidus* : il constate qu'avant cette fécondation, les noyaux de l'oogone et de l'anthéridie subissent une mitose ; un d'entre eux s'en détache dans l'oogone pour donner le noyau femelle de l'oosphère, alors que l'anthéridie fournit le noyau mâle. Le noyau de fécondation qui résulte de leur union, se divise aussitôt de façon à procurer 32 noyaux à l'oospore mûre.

En 1898, Berlèse [2], de son côté, confirme sur un grand nombre de points les observations de Wager après avoir examiné le *Cystopus Portulacae* et différentes espèces de *Peronospora* : *P. Ficariae, P. Alsinearum, P. effusa* ; il distingue deux cas pour la fusion des noyaux sexuels : celle-ci aurait lieu dans *C. Portulacae* et *Peronospora Ficariae* avec des noyaux mâle et femelle, à l'état de repos, alors que pour les *P. Alsinearum* et *P. effusa,* la fusion aurait lieu entre noyaux montrant leurs chromosomes au nombre de 12 à 16 ; par suite, il pense que la réduction chromatique ne précède pas la fécondation.

En 1899, paraît un mémoire extrêmement important de Stevens [30] qui étudie dans tous leurs détails les oogones et les anthéridies de l'*Albugo* (Cystopus) *Bliti* ; c'est un travail dont il faut admirer sans réserve les résultats tant en ce qui concerne la structure des noyaux, leur mode de division et la façon dont ils se comportent dans la formation de l'oospore composée : dans la formation de ces oospores interviennent une centaine de fusions entre noyaux mâles provenant de l'anthéridie et noyaux femelles restés dans l'oos-

phère : ce savant signale en outre l'existence d'une papille déjà aperçue par Wager chez le *Cystopus candidus* qui se dirige de l'oogone vers l'anthéridie et précède la formation du tube anthéridien ; il note également la présence d'un corps central particulier, le coenocentre qui apparaît pendant la formation de l'oosphère et disparaît avant la fécondation. Stevens désigne encore sous le nom de zonation l'état dans lequel il existe une limite nette entre l'ooplasme et le périplasme, alors qu'il n'existe encore aucune membrane les séparant.

Cette même année 1899, Wager [36], dans une note sur la sexualité des Champignons, compare les résultats obtenus par P. A. Dangeard, concernant la reproduction sexuelle des Champignons supérieurs, avec ceux qui viennent d'être signalés.

En 1900, Wager [37] reprend la question de la fécondation dans le *Peronospora parasitica* : il la décrit à nouveau en détail, montrant que la fécondation ne comprend que l'union tardive dans cet exemple d'un noyau mâle et d'un noyau femelle : tous les autres noyaux restent dans le périplasme. Il retrouve dans l'oosphère le coenocentre de Stevens, qu'il désigne sous le nom de « central body » mais il l'assimile à tort au gros corpuscule chromatique signalé par P. A. Dangeard dans les oospores mûres.

Cette même année 1900 voit paraître un travail de Davis [13] sur la fertilisation chez l'*Albugo candida* ; tous les phénomènes qui l'accompagnent sont décrits avec une grande précision et la démonstration de la structure uninucléée de l'oosphère est donnée d'une façon définitive ; les diverses transformations du coenocentre depuis son apparition dans l'oogone jusqu'à sa disparition au moment de la fusion sont décrites en détail ; ce savant faisant allusion à l'*Albugo Bliti* propose d'appeler cœnogamète, les masses multinucléées de cytoplasme dont chaque noyau est sexuel et prend part à la formation de l'oospore composée.

Chaque année a vu paraître un mémoire sur cette question de la reproduction des Péronosporées : celui de Stevens [31] en 1901, va clore, on peut le dire, pour de longues années, la liste de ces travaux.

Ce mémoire de Stevens, important comme le premier, est consacré aux différentes espèces d'*Albugo*, *A Portulacae*, *A. Tragopogonis*, *A. candida*, dont il résume les principaux caractères cytologiques en faisant ressortir les principaux caractères communs et les différences ; ces notions sont devenues depuis longtemps classiques.

Stevens s'attache à montrer que Berlèse a dû se tromper sur plusieurs points dans sa description de l'*Albugo Portulacae*: c'est ainsi que Berlèse parle d'une trentaine de noyaux dans l'oogone avant la mitose et il dit que ces noyaux se divisent plusieurs fois, les nucléoles disparaissant à la prophase ; Stevens en compte 3 à 400 qui subissent deux mitoses successives et conservent leurs nucléoles jusqu'à l'anaphase. Berlèse parle d'une douzaine de noyaux dans l'anthéridie, tandis que Stevens parle d'un nombre plusieurs fois plus grand ; d'après le premier auteur, on pourrait compter le nombre des chromosomes pendant la fusion, alors que pour le second, les noyaux sont au stade de repos, avec des chromosomes absolument indistincts.

Toutes ces différences ont conduit Stevens à se demander si Berlèse avait bien étudié la même espèce que lui ; après avoir émis différentes hypothèses à ce sujet, il en arrive à conclure que le problème ne sera définitivement résolu qu'après un nouvel examen de la forme italienne d'*Albugo*.

Dans son dernier travail, 1902, Stevens [32] étudie le *Sclerospora graminis* qui est un genre de Peronosporées intermédiaire entre les *Peronosporaceae* et les *Albuginaceae* ; les caractères histologiques de cette espèce la rapprochent du genre *Peronospora* dont elle partage presque entièrement le mode de reproduction.

En 1904, Ruhland [28] publie un mémoire sur la repro-

duction sexuelle des *Cystopus Lepigoni, Peronospora Alsinearum, Sclerospora graminicola, Plasmopara densa.*

En ce qui concerne le *Cystopus Lepigoni*, l'auteur estime que le nombre des chromosomes ne dépasse pas 4 ou 5 ; le coenocentre à un moment donné offre un aspect étoilé ; les noyaux sexuels qui vont se fusionner montrent à leur intérieur un beau spirème ; la première mitose du noyau de fécondation offre à l'intérieur de la membrane nucléaire un beau fuseau et des chromosomes très distincts ; les mitoses successives portent le nombre des noyaux de l'oospore à 70 ou 80.

La description du *Peronospa Alsinearum* est succinte et rappelle ce que l'on connaît de la reproduction sexuelle dans ce genre, d'après les travaux de Wager. A noter pour le *Sclerospora graminicola*, l'existence pour la première fois constatée, il semble, dans cette famille, de chromosomes en forme d'U ou de V ; le coenocentre manque.

Chez ce *Plasmopara densa*, ce sont deux noyaux sexuels seulement qui s'unissent au centre de l'oosphère, comme chez les *Peronospora* ; mais il paraît que le noyau femelle subit une mitose avant de s'unir tardivement au noyau mâle ; la papille réceptive est rudimentaire et le coenocentre manque; l'auteur a vu un oogone qui renfermait plusieurs oosphères et rappelait ainsi un oogone de *Saprolegnia*. Le fait aurait besoin d'être confirmé, car l'apparence pourrait être due à la présence d'un parasite.

Une autre espèce de *Plasmopara*, le *P. alpina* avait fait en 1903 l'objet des observations de Rosenberg [26]; Ruhland y fait allusion dans son mémoire.

Le degré de perfection de ces recherches sur le comportement des noyaux, au cours de la reproduction sexuelle, ne nous aurait guère permis d'aborder avec grand succès la cytologie des Péronosporées, s'il ne s'était produit, dans ces dernières années, des conceptions entièrement nouvelles au sujet des constituants du cytoplasme.

C'est ainsi que nos idées sur la constitution du système vacuolaire ont été complètement modifiée par les travaux de P. A. Dangeard, lequel dès 1916 [6] constate que les vacuoles de l'*Himanthidium pectinale* au lieu de contenir une solution aqueuse, comme on l'admettait, renferment en réalité une solution colloïdale plus ou moins épaisse qui se précipite en corpuscules chromatiques de différentes grosseurs ; dans cette même note, il étend cette notion à un grand nombre de Champignons et d'Algues.

Le nom de *vacuome* est appliqué pour la première fois en 1919 par P. A. Dangeard [7] au système vacuolaire et il a été adopté depuis par tous ceux, botanistes ou zoologistes qui se sont occupés de cette formation.

Un peu plus tard, Pierre Dangeard [11] dans un mémoire qui fait autorité et qui renferme une bibliographie très complète du sujet, étudie en détail le vacuome chez un certain nombre de Phanérogames ; il admet que les vacuoles ne se forment jamais de *novo*.

Les importantes recherches de Guillermond [16] et de Parat [25] montrent quelle répercussion cette notion du vacuome a eue dans l'étude cytologique de la cellule animale et de la cellule végétale.

Nous devions tout naturellement, pour notre compte, étendre cette notion du vacuome aux Péronosporées ; elle nous a permis de déterminer, parmi d'autres constatations intéressantes, l'origine du « globule central » des oosphères lequel avait donné lieu, depuis fort longtemps à de noumbreses controverses.

Mais c'est surtout sur la formation désignée sous le nom de cytome qui correspond à une partie du chondriome de la cellule animale que notre attention devait se porter [10], si plusieurs auteurs l'ont décrite chez d'assez nombreux Champignons, on ignorait à peu près tout de ses caractères chez les Péronosporées ; un seul, Lewitsky [19] l'avait aperçue dans le *Cystopus Bliti* et le *C. candidus* ; la description

qu'il en donne était complètement à reprendre, car cet auteur sous l'influence des idées émises par Guillermond et rectifiées depuis par ce savant, croyait alors à une relation de parenté entre les chondriosomes et les corpuscules métachromatiques contenues dans les vacuoles ; nous avons vu précédemment que l'origine exacte des corpuscules métachromatiques a été établie par P. A. Dangeard en 1916.

Technique

A. Pour le cytome :

La fixation.

Le liquide de Regaud dont la formule que nous employons est la suivante :

Bichromate de Potasse à 3 %........ 4 parties
Formol commercial à 40 %........... 1 partie

conserve très bien le cytoplasme et les cytosomes ; malheureusement il est impossible d'étudier les noyaux avec ce fixateur ; ceux des œufs apparaissent souvent comme des taches homogènes et dans ceux des conidies et des mycéliums, le nucléole est seul bien colorable, les filaments du spirème restant à peu près invisibles dans le nucléoplasme hyalin.

Ce fixateur est le meilleur pour les cytosomes et doit être préparé au moment de l'emploi. Les objets y restent quatre jours, après quoi, on les transporte pour une semaine dans du bichromate de potasse à 3 %.

La coloration.

A peu près constamment nous avons utilisé la coloration à l'hématoxyline avec mordançage et régression à l'alun de fer ammoniacal.

B. Pour le noyau :

La fixation.

Le fixateur qui nous donne le meilleur résultat pour le noyau est le liquide chromo-acétique, dont la formule est la suivante :

Acide chromique .... 0,8 %
Acide acétique .... 0,1 %

Ce fixateur est surtout recommandé par Stevens dans ses travaux sur la famille de Peronosporacées.

Certes, le fixateur Flemming faible est très bon aussi, mais l'acide osmique noircit trop le matériel. Pour éviter cet inconvénient, il faut le décolorer avec l'eau oxygénée.

La coloration.

Nous avons employé la triple coloration de Flemming décrite dans tous les traités classiques. Lorsque la coloration est bien réussie, les chromosomes se colorent en bleu, les centrosomes en rouge et les fuseaux en bleu pâle.

C. Nous n'insistons pas sur les procédés de lavage, de deshydratation, d'inclusion dans la paraffine et enfin de sectionnement pour lesquels on trouve de nombreux détails dans tous les Manuels d'histologie.

DESCRIPTION DES ESPÈCES

1° *CYSTOPUS CANDIDUS*

Les premiers renseignements sur l'histologie du *Cystopus candidus* paraissent dus à P. A. Dangeard [5], *loc. cit.*, p. 125 ; on ne peut guère tenir compte en effet des indications erronées fournies par Chmielewski en 1888 tout au plus peut-on rappeler un travail de Fisch, en 1885, lequel après avoir étudié la structure et la fécondation dans le genre *Pythium* admet,

à la suite d'observations incomplètes qu'il doit en être de même dans les *Cystopus*.

Le mérite d'avoir décrit assez exactement la reproduction sexuelle chez le *Cystopus candidus* revient à Wager 1896 [35] et Davis 1900 [13] n'a fait qu'y ajouter certains détails qui complètent heureusement cette description.

Enfin Stevens en 1901 [31] n'a pas manqué d'étudier à nouveau cette espèce pour la comparer à l'*Abugo Portulacae* et à l'*Albugo Tragopogonis*.

Nous reviendrons plus en détail dans notre exposé sur les résultats obtenus par ces divers savants ; mais nous devons dire que si nous avons cru devoir reprendre l'ensemble du développement, c'est plutôt en vue d'une confirmation des faits annoncés que dans l'espoir de nouvelles découvertes sur la façon dont se comportent les noyaux ; chemin faisant, il nous a cependant été possible d'apporter une contribution personnelle non négligeable, principalement en ce qui concerne la germination des oospores.

Notre but visait surtout à bien établir comment se comportait le cytome dans les Péronosporées et comment il se transmettait d'une génération à la suivante : de ce côté, les résultats obtenus sont aussi complets qu'entièrement nouveaux.

Incidemment aussi, nos observations sur le vacuome ont fourni des résultats intéressants et qui ont permis d'élucider certains problèmes restés en suspens.

Ces considérations s'appliquent non seulement au *Cystopus candidus* mais également aux autres espèces.

I. — La reproduction sexuelle.

Le *Cystopus candidus* attaque presque toutes les espèces de la famille des Crucifères. Sur *Capsella Bursa-Pastoris*, il se trouve en abondance sur la tige. Dans la partie de la tige où il y a beaucoup d'oogones au commencement de leur développement, il se présente avec une couleur rouge violacée

foncée et gonfle légèrement la surface. Lorsque les oogones sont mûrs, la tige brunit et pourrit, on peut alors déchirer les tissus facilement.

Le jeune oogone est formé par un renflement du mycélium. Le cytoplasme et de nombreux noyaux passent rapidement du mycélium dans la partie élargie. A l'entrée du jeune oogone, où le cytoplasme est très dense, on voit des radiations et striations qui vont dans le jeune oogone. Ce phénomène d'écoulement du cytoplasme a été remarqué d'abord par Istvanffi, puis par les autres auteurs, qui ont fait des recherches sur les Péronosporées. Le jeune oogone à ce stade présente une forme irrégulière ; la forme des noyaux est très variable (fig. 1, planche 1). Au fur et à mesure que le jeune oogone se remplit, il prend une forme sphérique. Les noyaux deviennent arrondis et le cytoplasme est réticulé (fig. 2, planche I). A ce moment, le jeune oogone se sépare du mycélium par une cloison et c'est ainsi qu'il est définitivement formé.

Le nombre des noyaux dans le jeune oogone varie de 60 à 100 suivant sa grandeur. Ces noyaux qui sont un peu plus gros que ceux du mycélium possèdent une membrane, un nucléole et un réseau chromatique (fig. 3 et fig. 3 *bis*, planche I).

L'anthéridie se développe en même temps que l'oogone. Elle s'applique sur la membrane de ce dernier. Sauf l'écoulement du cytoplasme qui n'est pas très sensible dans l'anthéridie, le reste se passe à peu près comme dans l'oogone. Lorsque l'anthéridie est bien formée, elle se sépare du mycélium qui lui a donné naissance par une cloison. Le nombre des noyaux dans l'anthéridie varie de 6 à 16 environ. Après sa formation, les noyaux prennent la forme ordinaire. Quant au cytoplasme, il est beaucoup plus dense que celui de l'oogone, et par suite, il n'est pas facile de l'étudier à ce moment.

Dans l'oogone, le cytoplasme après fixation par les réactifs est partout un peu retracté par rapport à la membrane

sauf du côté où l'anthéridie s'applique sur l'oogone ; là se trouve une masse homogène, épaisse et granuleuse de cytoplasme qui est considéré par Wager comme une première indication de la future « tache réceptive » (fig. 4, planche I). C'est cette masse qui va donner une sorte d'enzyme destinée à perforer la membrane, d'après Wager et certains auteurs.

A partir de ce stade, les noyaux augmentent de volume et leurs réseaux deviennent plus nets ; le cytoplasme de l'oogone devient plus vacuolaire. Ces changements nous conduisent jusqu'au moment de la division des noyaux et de la formation de l'oosphère.

A. *Formation de l'oosphère et du tube fécondateur.*

Dans cette petite masse épaisse et granuleuse, du côté de l'oogone près de l'anthéridie, apparaît un espace hyalin d'où part une sorte de papille fortement colorable, dans la direction de l'anthéridie, tendant à se frayer un chemin à travers la membrane de l'oogone. C'est cette papille qui est désignée sous le nom de « papille réceptive » (fig. 5, planche I et fig. 3, planche IV). Le cytoplasme de l'anthéridie se contracte d'abord, puis celle-ci émet un tube fécondateur qui pénètre dans l'oogone par le même chemin suivi précédemment par la papille. Cette dernière opération a lieu quand la formation de l'oosphère a commencé (fig. 5, planche I).

La différenciation de l'oosphère chez ce *Cystopus* est beaucoup plus simple que chez les autres espèces ; par contre, son cytoplasme est beaucoup plus vacuolaire. Tout d'abord, il n'y a pas de condensations partielles préalables de cytoplasme, comme dans le *Cystopus Bliti*, mais simplement une sorte de déplacement de la périphérie vers le centre aboutissant à la formation d'une masse centrale ; le cytoplasme laisse derrière lui des trabécules qui la relient à la membrane de l'oogone (fig. 2, 3, planche III).

Puis, cette oosphère rudimentaire devient de plus en plus

vacuolaire, et le cytoplasme en dehors de l'ooplasme se condense pour former le périplasme d'ordinaire épais, peu ou non vacuolaire (fig. 5, planche I).

Au moment de la différenciation de l'oosphère, les noyaux se dirigent vers la périphérie de l'oosphère. C'est là qu'ils effectuent pour la plupart leurs premières divisions. Les noyaux, après leur augmentation de volume, ont beaucoup de granules chromatiques dispersés dans leurs réseaux. Il nous semble que les nucléoles sont toujours présents à ce stade, et même aux stades ultérieurs, contrairement à ce qu'a dit Wager dans ses recherches sur cette espèce. Nous avons vu des cas où les réseaux semblent se contracter au centre des noyaux et former une masse exactement semblable à celle qu'a trouvée Wager, mais ces cas exceptionnels se trouvent surtout à côté des mitoses en métaphases, ce qui montre que ce sont tout simplement en général des fuseaux qui sont vus de face (fig. 2, planche III).

Pendant la division des noyaux, il apparaît au centre de l'oosphère rudimentaire un amas dense qui se colore différemment du cytoplasme environnant. A première vue, c'est une masse presque homogène, mais, en examinant attentivement, on y trouve de nombreux granules plus ou moins coalescents. C'est le coenocentre.

Ce coenocentre est peut-être produit par l'accumulation des granulations chromophiles du cytoplasme. Tout de suite après son apparition, quelques noyaux fils rentrent de la périphérie dans l'oosphère où ils subissent la deuxième division. Chose curieuse, les fuseaux de la deuxième mitose, attirés par le coenocentre, vont directement se mettre en contact avec ce dernier, et on voit souvent quelques fuseaux qui enfoncent leurs extrémités dans le coenocentre, comme si c'était pour y puiser leur nourriture ou pour se fixer (fig. 1, planche III). Généralement, ces fuseaux sont deux fois plus longs que ceux de la première mitose. Les noyaux qui restent dans le périplasme ne subissent pas de deuxième division.

A ce stade, l'oosphère est presque différenciée, bien que sa membrane ne soit pas encore formée. Il est à noter que la membrane de l'oosphère ne se formera qu'au moment où la fécondation aura lieu ou peu après.

Chez cette espèce, quel est le stade qui correspond le mieux au stade de zonation des autres espèces ? Nous ne pouvons pas le préciser ; d'après Stevens, c'est le stade, où tous les noyaux sauf un retournent dans le périplasme. A ce moment, le périplasme et l'ooplasme sont bien différenciés.

B. *La première mitose.*

Dans son travail, Wager avait indiqué que, chez cette espèce, il n'y a pas de centrosomes. Au cours de la division, les noyaux perdent d'abord leurs nucléoles et presque aussitôt, leurs réseaux deviennent plus visibles et granuleux. D'après lui, ce sont ces réseaux qui se transforment en des chromosomes ayant l'aspect de granules.

La première mitose débute dans des oogones qui montrent déjà un commencement de différenciation ; au centre se voit une masse de cytoplasme plus dense qui est reliée à la périphérie par des trabécules entourant de grands espaces vacuolaires ; les noyaux au commencement de la prophase sont encore arrondis. On rencontre dans le même oogone des noyaux d'apparence uniquement granuleuse ou réticulée granuleuse ; mais il en existe d'autres qui sont à un stade un peu plus avancé ; ceux-ci montrent un beau spirème constitué par un ruban, en grande partie homogène, enroulé en spirale, au contact de la membrane nucléaire.

L'existence d'un spirème aussi caractéristique est importante à constater et les auteurs qui en ont parlé n'ont pas toujours assez insisté sur son importance ; la mitose de ces noyaux pourtant si petits rentre ainsi exactement dans le schéma général que l'on connaît dans des familles plus élevées en organisation, telles par exemple, que les Ascomycètes

(consulter en particulier le mémoire de Mlle Panca Eftimiu et Kharbush, Le Botaniste, série XX, 1928).

Naturellement, comme chez ces derniers champignons, les chromosomes proviennent de la fragmentation de ce spirème, mais leur nombre est beaucoup plus élevé ; c'est au moment où ces chromosomes approchent de l'équateur du noyau qui s'est allongé que l'on voit apparaître aux deux extrémités un centrosome.

Douze à seize chromosomes ont été comptés par Wager: Davis croit que ce chiffre est probablement exact ; nous ne pensons pas qu'il soit jamais supérieur à 12 et encore devons-nous ajouter qu'on a souvent l'impression qu'il ne dépasse guère le chiffre de 10.

Le fuseau étant intranucléaire, commence à se former aux deux extrémités du noyau, puis ses fibres rayonnent jusqu'à l'équateur (fig. 1, planche II) ; son origine exacte est difficile à préciser.

La métaphase est marquée par la formation de la plaque équatoriale. Quand les chromosomes se rassemblent à l'équateur, ils prennent une position transversale pour former la plaque équatoriale et commencent à se diviser ; on en compte 12 au plus et encore difficilement. A ce stade, les centrosomes sont assez nets à chaque extrémité du fuseau. Quant au nucléole, on le trouve quelquefois en dehors du fuseau, mais en dedans de la membrane nucléaire (fig. 1, planche II).

L'anaphase est marquée par la migration des chromosomes vers les deux pôles du fuseau. Les chromosomes se divisent en deux groupes, dont chacun se dirige vers un pôle ; ils se déplacent généralement avec des vitesses inégales. A ce moment, le fuseau a perdu ses pointes polaires et la membrane du noyau n'est plus visible. Les chromosomes, une fois arrivés au pôle, s'unissent entre eux. Les quelques fibres qui joignent encore les deux groupes de chromosomes se rompent au milieu, et les noyaux fils sont formés. Après la première division, le nombre des noyaux dans l'oogone est

naturellement doublé ; 100 à 150 noyaux ont été comptés, suivant la grandeur, dans tout l'oogone.

C. *La deuxième mitose.*

La deuxième division affecte quelques noyaux seulement dans l'oosphère. Entre la première et la deuxième mitose, il n'y a pas beaucoup de différence, si ce n'est que les fuseaux de la deuxième sont beaucoup plus longs que ceux de la première.

L'ooplasme est uniformément distribué, avec au centre un coenocentre granuleux, très coloré et entouré d'une zone de cytoplasme dense, faiblement chromophile. Si l'on en juge par le rattachement de 2 ou 3 fuseaux au coenocentre, ce dernier doit exercer une attraction assez grande sur les fuseaux. Cette attraction a été indiquée par Wager d'abord, puis confirmée par Davis et Stevens. Quand ces fuseaux ont achevé leur division, les noyaux fils se détachent peu à peu du coenocentre, de sorte que, à la fin, il n'y reste qu'un seul noyau qui y puise peut-être sa nourriture pour augmenter de volume. Théoriquement, tous les noyaux sauf un devraient sortir de l'ooplasme, mais, on en trouve encore un ou deux qui persistent dans l'oosphère (fig. 3, planche III).

D. *Fécondation.*

Nous avons décrit les changements qui se passaient dans l'oosphère, mais, il s'en produit également dans l'anthéridie, notamment, la vacuolisation du cytoplasme et la division des noyaux. La division des noyaux est simultanée dans l'oogone comme dans l'anthéridie, de sorte que, à la fin de la mitose, le nombre des noyaux de l'anthéridie est doublé. Nous n'avons pas pu constater si la deuxième mitose existe dans l'anthéridie.

Au moment où l'oosphère est bien différenciée, le tube

fécondateur pénètre dans le périplasme et son extrémité vient toucher l'ooplasme. Au fur et à mesure que le tube pénètre dans l'oosphère, il s'élargit fortement et prend toujours la forme d'une massue plutôt que d'un sac (fig. 5 et fig. 8, planche IV) comme l'a figuré Wager. Dans le tube, on voit à l'extrémité un noyau qui vient de l'anthéridie, et du cytoplasme épais qui devient vacuolaire au fur et à mesure que le tube s'élargit (fig. 8, planche IV). Wager croit qu'une partie de ce cytoplasme est utilisée pour la formation de la membrane du tube. Il est très possible qu'un deuxième noyau puisse passer à la base du tube, mais, nous ne savons pas s'il entre dans l'oosphère, quand le tube libère son contenu. Parfois on voit une sorte de vide qui se produit autour et en avant du tube.

Quand le tube est arrivé jusqu'au centre de l'oosphère, son extrémité se gonfle de façon à ce que sa membrane devienne aussi mince que possible en ce point. Cette partie de la membrane se dissout pour laisser passer le contenu du tube. Aussitôt après la libération de son contenu, le tube se contracte et perd de sa netteté : l'on voit encore ses traces dans le périplasme aux stades ultérieurs (fig. 6, planche II). Une partie seulement du cytoplasme de l'anthéridie passe dans le tube. Le cytoplasme qui reste dans l'anthéridie est largement vacuolaire avec des cytosomes et des noyaux qui vont dégénérer.

Le noyau mâle, une fois libéré, entre tout de suite en contact avec le noyau femelle. Il est un peu plus petit que ce dernier, mais il augmente de volume pour devenir finalement aussi gros que lui. Les deux noyaux restent un moment en contact, puis ils se fusionnent (fig. 3, planche II). C'est toujours à l'état de repos que les deux noyaux se fusionnent. Dans ces noyaux à l'état de repos, on distingue très bien les nucléoles qui vont se fusionner à leur tour. Si nous avons trouvé des cas où les noyaux contiennent beaucoup de granules, c'est que les noyaux ne sont pas à l'état de fusion. A

ce moment, le coenocentre a complètement disparu. Il a donc une existence très brève. Apparu au moment de la première mitose, il arrive à son maximum de développement au moment de la différenciation de l'oosphère, et disparaît complètement après la fusion. Une membrane mince se forme autour de l'oosphère à ce stade.

E. *Maturation de l'oosphère.*

Après la libération du noyau mâle et du cytoplasme qui l'accompagne, le tube fécondateur persiste encore un moment, malgré la désorganisation de son extrémité et la perte de sa turgescence à la suite de l'expulsion cytoplasmique qui vient de se produire ; on en retrouve des traces dans le périplasme (fig. 6, planche II). Le cytoplasme dense venant du tube est à ce moment mélangé à celui de l'oosphère et le contenu de l'œuf contient de nombreuses vacuoles arrondies, de dimensions variables.

Dans l'impossibilité où nous nous sommes trouvé, ainsi que tous les auteurs précédents de constater l'existence d'une réduction chromatique lors des deux mitoses de l'oogone, nous devions apporter une attention particulière aux premières divisions du noyau de fécondation de l'oospore.

Ce noyau, après la fécondation, augmente considérablement de volume : il montre un très gros nucléole dense, homogène, se colorant en violet par la triple coloration de Flemming : le nucléoplasme est également abondant et dense, peu chromatique, de teinte jaunâtre.

Plus tard, au moment de la prophase, des granules chromatiques apparaissent alors que le nucléole est en résorption ; le noyau s'allonge, sa membrane devient distincte : aux deux extrémités du fuseau apparaissent les centrosomes (fig. 5, planche III).

On a nettement l'impression que cette première division est nettement différente de celles qui se produisent dans

l'oogone ; le nombre des chromosomes paraît double à la plaque équatoriale (fig. 8, planche III) et il s'agit probablement de chromosomes bivalents ; le fuseau s'allonge considérablement, montrant deux pointes effilées dans lesquelles à l'anaphase, les chromosomes s'accumulent et paraissent se confondre en une masse triangulaire.

A la seconde division, les fuseaux sont encore très allongés, mais beaucoup plus étroits ; les chromosomes étaient indistincts à la plaque équatoriale ; lors de l'anaphase, ces chromosomes étaient encore confondus en une masse triangulaire chromatique, mais celle-ci était très réduite par rapport à celle de la première division.

Notre description est plus complète que celle de Wager [34] p. 335 ; elle en diffère sur certains points en particulier sur la forme si spéciale du fuseau ; ce qui nous paraît presque certain, c'est l'existence d'une réduction chromatique à ce stade du développement.

La division suit son cours normal, et bientôt, on trouve plusieurs noyaux dans l'oosphère ; puis, ces noyaux se divisent à leur tour jusqu'au nombre de 32 noyaux selon Wager (fig. 7, planche III). Seulement, dans les divisions successives, le nombre de chromosomes est nettement bien inférieur à celui de la division qui vient tout de suite après la fécondation.

Ces noyaux qui dans une seule section peuvent être au nombre de huit sont devenus très petits avec un nucléole très net ; parfois, on distingue un fin réseau de linine.

L'oospore, au moment où le noyau de fécondation augmente de volume possède de nombreuses petites vacuoles ; chacune d'elles renferme une endochromidie sous forme d'un petit corpuscule.

Par la suite ces petites vacuoles s'unissent pour en former de plus grosses et leur chromidium fournit des globules plus gros ; le phénomène se continue jusqu'au moment où toutes les vacuoles fusionnées donnent naissance à une grande va-

cuole unique qui renferme le gros corpuscule chromatique signalé autrefois par P. A. Dangeard. Il s'agit bien ici du vacuome, car nous avons réussi à colorer cette grande vacuole centrale dont le contenu est devenu si dense par le rouge neutre ; ce contenu de la vacuole qui constitue une réserve est formé ou imprégné de substances certainement très diverses comme de la métachromatine, des albuminoïdes, des substances phénoliques et sans doute aussi des substances grasses ; cette complexité dans sa composition explique son comportement à l'égard des réactifs fixateurs et des réactifs colorants, acide osmique, rouge neutre. Soudan III, etc. (1).

Au fur et à mesure que les vacuoles se fusionnent pour donner la vacuole centrale, les noyaux de l'oospore, d'abord dispersés dans toute l'oospore se trouvent réunis dans la couche pariétale de cytoplasme.

Au cours de la division du noyau de fusion, l'exospore commence à se former. Tout d'abord, à l'intérieur de la membrane primitive — ce nom a été donné par Stevens à la membrane de l'oosphère, à cause de son apparition précoce — l'ooplasme s'écarte un peu partout pour ménager la place nécessaire à la formation de l'endospore (fig. 5, planche III). Un peu plus tard, on trouve à l'extérieur de cette membrane une couche qui est formée la première et qui est traversée par des canalicules serrés dans la partie intérieure de la couche (fig. 5, 7, 8, planche V). C'est cette couche qui est appelée par Wager « columnar layer ». La coque se forme presque en même temps que l'endospore. Cette dernière consiste en une couche homogène, épaisse, régulière, transparente, colorable en bleu clair par le carmin d'indigo. La coque est toujours épaisse, jaune, ornée de côtes saillantes

1. Nous devons d'avoir pu éclaircir l'origine du corpuscule central de l'oospore des Péronosporées, aux indications de notre maître P.-A. Dangeard qui venait précisément de suivre les mêmes phénomènes dans l'oospore des Saprolégniées.

(verruqueuse en coupe optique). Entre l'endospore et la « columnar layer », ou couche striée, se trouve une couche intercalaire très mince, à peine visible. Ces 3 couches forment l'exospore (fig. 2, 8, planche V ; fig. 7, planche III).

Nous croyons que l'exospore, surtout la coque, se forme dans le périplasme, tandis que l'endospore se formerait dans l'ooplasme. Malgré la formation de la coque, on voit quelquefois du périplasme avec ses noyaux en dégénérescence en dehors de celle-ci (fig. 4, planche III ; fig. 6, planche V).

Quelle est la composition chimique de l'exospore et de l'endospore ? Ces deux membranes sont colorées en bleu violacé par l'acide phosphorique iodé, donc, sont au moins partiellement cellulosiques, mais, en employant la double coloration bleu de naphtylène-vert acide, nous avons pu colorer l'exospore en violet et l'endospore en vert, ce qui peut faire penser à la présence de composés pectiques dans la coque. C'est pourquoi nous avons essayé aussi le rouge de ruthénium, colorant les composés pectiques, en mélange avec l'azurine brillante. Les résultats sont variables. Tantôt la coque est colorée en rose, tantôt en bleu. Sans doute, au début, n'y a-t-il pas de composés pectiques, mais seulement de la cellulose, d'où la coloration bleue obtenue avec l'azurine-brillante : plus tard, la coque se chargerait de composés pectiques colorables en rose par le rouge de ruthénium.

L'exospore comme l'endospore renferment aussi de la callose, car ces deux membranes se colorent par le bleu coton après traitement successif par l'acide chlorhydrique concentré et le réactif de Schweitzer.

Ce qui caractérise cette espèce, c'est que l'œuf germe avant le repos d'hiver.

F. *Cytome et Vacuome.*

Chez cette espèce, le système vacuolaire est beaucoup plus développé que chez les autres espèces ; à part quelques exceptions l'ooplasme reste toujours plus ou moins vacuolaire.

Le périplasme à un moment donné, est épais, mais, aux stades ultérieurs, il devient également très vacuolaire.

Le cytome se trouve en abondance dans le jeune oogone ; avec la triple coloration, ses petits corpuscules prennent une coloration jaune ou rouge ; les cytosomes nombreux sont dispersés dans les trabécules du cytoplasme. Ils sont noirs et très nets quand on les colore à l'hématoxyline ferrique après fixation dans le liquide de Regaud (fig. 1, 2, 3, planche IV).

Au stade de différenciation de l'oosphère, le nombre de ces petits corpuscules a généralement diminué dans l'ooplasme mais, par contre, des stades de division ont pu y être trouvés. Ces corps en bâtonnets restent toujours le long des trabécules, puis ils se divisent en deux, de sorte qu'on voit le plus souvent les cytosomes appariés. Dans le périplasme, à ce stade, les cytosomes sont nombreux et paraissent un peu plus gros que ceux de l'ooplasme. Ce n'est que rarement qu'on peut trouver des stades de division des cytosomes dans le périplasme (fig. 4, 7, pl. IV).

Dans les jeunes stades de l'anthéridie, on distingue difficilement ces petits corpuscules à cause de la densité et de la forte colorabilité du cytoplasme, mais dès que le cytoplasme devient un peu vacuolaire après la sortie du tube fécondateur, on voit nettement les cytosomes qui se trouvent dans les trabécules du cytoplasme (fig. 2, 3, planche IV).

Au stade de la fécondation, le tube fécondateur apporte à l'oosphère, outre un noyau mâle, un peu de cytoplasme qui entraîne nécessairement des cytosomes avec lui (fig. 5, 6, planche IV). A ce stade, les cytosomes sont toujours moins nombreux dans l'oosplame que dans le périplasme ; ceux de l'ooplasme sont un peu plus petits que ceux du périplasme, ce qui semble en relation avec la dimension des mailles.

Lorsque l'oospore mûrit, les cytosomes sont encore très nets dans le périplasme, mais, dans l'ooplasme, ils sont généralement masqués par les globules qui se forment en abon-

dance à ce stade. Dès que ces globules se sont rassemblés en formant une masse centrale, les cytosomes réapparaissent nettement dans la couche pariétale du cytoplasme de sorte que, même dans les œufs formés, on trouve toujours des cytosomes, plus ou moins colorables (fig. 2, 5, planche V).

Les endochromidies apparaissent aussi de bonne heure, mais elles sont très peu nombreuses dans le jeune oogone. Dans la triple coloration, ces corps prennent aussi la couleur jaune, mais il ne faut pas les confondre avec les cytosomes. D'ailleurs, la différence entre ces deux sortes de corpuscules est théoriquement très facile à établir : les endochromidies se trouvent toujours dans les vacuoles, tandis que les cytosomes se trouvent sur les trabécules. De plus, elles sont assez peu colorées par l'hématoxyline, tandis que les cytosomes sont toujours noirs. Au stade de différenciation de l'oosphère, ces endochromidies sont assez nombreuses dans les vacuoles du périplasme. Dans l'ooplasme, elles ne sont pas moins nombreuses, mais elles sont beaucoup plus petites que celles du périplasme, de sorte qu'on pourrait parfois les confondre avec les cytosomes (fig. 2, 3, planche III ; fig. 2, planche II). Dans l'anthéridie, on en trouve toujours quelques-unes quand le cytoplasme est devenu largement vacuolaire. Au stade de la maturation de l'oospore, ces corps restent visibles dans le périplasme ; dans l'ooplasme, il n'est pas facile de les distinguer à cause des globules qui ont presque rempli l'oosphère.

La troisième catégorie de corps apparaît seulement dans l'oosphère mûre, quand la membrane commence à se former. Ces corps sont tellement nombreux qu'ils remplissent l'oosphère tout entière (fig. 5, planche V). Dans les coupes très minces, on constate qu'ils sont dans les vacuoles (fig. 3, 5, planche II), ce qui nous fait penser à les considérer comme des endochromidies. Pour beaucoup d'auteurs, ces globules sont des graisses. Pour Stevens, ce sont des réserves ou des vésicules qui ont perdu leur contenu gras au cours de la fixation et de l'inclusion. Souvent, on voit dans ces globules, des

petites gouttelettes brillantes et réfringentes (fig. 7, planche III). Si l'on essaie de saponifier ces globules, on n'aboutit qu'à la formation d'un très petit nombre de cristaux ; aussi pensons-nous que ces globules et la masse centrale ne sont pas uniquement formés de graisses.

Même au stade où les globules sont réunis pour former une masse centrale, cette masse paraît déposée sur une sphère creuse. Dans la triple coloration ainsi que dans la coloration à l'hématoxyline, cette masse centrale est toujours plus pâle que son substratum. Cette distinction n'est pas facile à faire vitalement. Sur le vivant, nous avons réussi à la colorer par le rouge neutre, elle fixe également le Soudan III et réduit l'acide osmique, de sorte qu'il est bien délicat de conclure sur la véritable nature chimique de cette masse qui présente certains caractères des graisses et d'autres de la métachromatine.

II. — La reproduction asexuelle.

Les conidies de ce champignon forment des zoospores, d'après De Bary, lorsqu'on les sème dans une goutte d'eau ; elles s'imbibent rapidement d'eau et gonflent ; une papille obtuse se développe, et dans le cytoplasme finement granuleux, se forment des vacuoles qui disparaissent ensuite ; simultanément on voit le cytoplasme se fragmenter en 5 ou 8 portions polyédriques, renfermant chacune au centre une petite vacuole faiblement colorée.

Quelques minutes après la fragmentation, la papille gonfle, s'ouvre et les zoospores sont expulsées une à une par l'orifice sans donner aucun signe de mouvement. Ces zoospores prennent une forme lenticulaire, et se groupent devant l'orifice de la conidie en formant une masse globuleuse, bientôt elles commencent à se mettre en mouvement, les cils vibratiles deviennent visibles, et la masse tout entière se met à osciller. Finalement les zoospores se libèrent dans le liquide. Elles

ont pris la forme d'une lentille plan-convexe ou légèrement concave-convexe ; sous la surface plane ou concave, on trouve une vacuole discoïdale et les deux cils sont insérés au bord de cette vacuole ; le plus court en avant, le plus long en arrière et tous les deux du même côté. Chaque conidie donne de 5 à 8 zoospores chez ce champignon.

D'après L. R. Tulasne, chez C. *candidus*, les conidies sont presque toujours semblables et de forme cubique, mais quelquefois, on distingue des conidies qui sont plus grosses avec une forme tétraédrique. Le dimorphisme qui est très évident chez *C. Porlutacae*, est aussi présent, à un degré moindre chez *C. candidus*.

Bürgen [4] a donné une intéressante description de la formation des zoospores dans la conidie : une heure à une heure et demie après la mise en liberté des conidies dans l'eau, ces dernières prennent la forme d'un flacon ; des vacuoles de différentes grandeurs apparaissent ; entre ces vacuoles, des granules foncés s'arrangent selon des lignes plus ou moins régulières. Le cytoplasme se rétracte et se sépare du col de la conidie et des autres parties de la membrane, en laissant ainsi un espace clair rempli d'une substance fortement réfringente. Les vacuoles s'unissent et finalement disparaissent. Le cytoplasme se gonfle de nouveau, et se divise en zoospores par des lignes de granules qui se convertissent bientôt en membranes cellulaires continues. Chacune de ces zoospores contient une tache claire ainsi que l'a décrit De Bary.

Zalewski [38] [39] a aussi décrit la formation des conidies. Vers le sommet arrondi de la baside apparaît une gouttière qui finit par séparer une conidie par un étranglement. Juste au niveau de la constriction, apparaît une fine couche de cellulose, qui progresse vers le centre et forme enfin une cloison transversale. Quand cette membrane a atteint son épaisseur définitive, elle se divise en trois couches, dont l'une appartient à la baside et l'autre à la conidie. Ces deux couches

sont séparées par une troisième qui devient gélatineuse. Cette membrane, d'aspect gélatineux, se colore en jaune rose par l'iodine et l'acide sulfurique, tandis que la membrane de la conidie et celle de la baside se colorent en bleu. Cette gelée se gonfle d'abord pendant l'individualisation de la conidie. Puis elle se résorbe graduellement quand la conidie se développe, sauf une mince couche qui persiste entre les conidies et les relie entre elles. Cette gelée se dissout entièrement dans l'eau et les conidies se libèrent. Cette gelée est aussi capable d'absorber l'humidité de l'air. C'est ainsi que l'humidité de l'air suffit à libérer les conidies.

M. P. A. Dangeard [5] a vu autrefois que dans le mycélium, les noyaux sont en général assez espacés. Les conidies renferment un cytoplasme hyalin de 5 à 7 noyaux, c'est-à-dire qu'il y aura autant de zoospores. Il semble que tous ces noyaux proviennent du mycélium et qu'il n'y a pas de division dans la baside. Après avoir fourni un certain nombre de conidies, le filament claviforme s'épaissit et n'en produit pas de nouvelles ; la membrane est assez épaisse et le cytoplasme renferme deux à quatre noyaux.

Mangin [21] a décrit la désarticulation des conidies chez *C. candidus*. Quand une conidie est sur le point de se former, un anneau mince de callose apparaît près du sommet de la baside. Cet anneau s'épanouit graduellement à l'intérieur jusqu'à ce qu'une cloison transversale se soit complètement formée ; cette cloison a une forme conique ou convexe, sa concavité étant tournée vers la conidie. La membrane cellulosique en contact au bord avec cette cloison transversale se résorbe et une sorte de constriction se produit par épaississement de la cloison de callose. Ceci se fait rapidement, et finalement la callose forme une sorte de coupe à la base de la conidie ; c'est par cette coupe que cette dernière est rattachée à la baside. L'auteur n'a pas pu observer la division de cette coupe en trois comme l'ont fait De Bary et Zalewski. Finalement la coupe de la callose se réduit à une

masse courte, cylindrique qui rattache la conidie à la baside ; la membrane cellulosique de la baside et de la conidie s'étend définitivement des deux côtés de la callose. La couche de callose entre la conidie et la baside acquiert peu à peu la propriété de se dissoudre dans l'eau, grâce à quoi les conidies sont mises en liberté.

D'après Wager, les hyphes ont des dimensions et une forme irrégulières en contour, suivant la forme des espaces intercellulaires, au travers desquels ils circulent et se ramifient fréquemment. La dichotomie est très irrégulière, dépendant de la présence des espaces intercellulaires, et parfois, quand un filament atteint un espace intercellulaire plus large que la normale, il grossit considérablement et produit des ramifications rayonnant dans toutes les directions. Le cytoplasme de l'hyphe est granuleux et très vacuolaire. Quelquefois, le cytoplasme est très peu abondant, et forme juste une mince couche sur la contre-membrane de l'hyphe avec quelques trabécules transversaux. Par contre, il est parfois très dense et remplit complètement l'hyphe. C'est ce qui a lieu là où se produira sans doute une croissance active dans les portions basidiogènes du mycélium. Les suçoirs sont de petites saillies sphériques qu'on rencontre çà et là sur l'hyphe, parfois en nombre considérable. Ils indiquent souvent la présence du mycélium, avant qu'on ait pu observer ce dernier proprement dit et il est souvent très difficile de voir leur relation avec l'hyphe, sur lequel ils sont nés, à cause de la petite taille du tube de communication. Généralement, le cytoplasme du suçoir est très dense et fortement coloré ; il remplit presque complètement la cavité ; dans d'autres cas, il forme une couche pariétale de granules fortement chromophiles autour d'une vacuole centrale. Le cytoplasme de ces suçoirs se montre généralement un peu rétracté dans des coupes colorées.

Les noyaux du mycélium sont régulièrement répartis et espacés dans le cytoplasme, mais là où le cytoplasme est

abondant et où probablement aura lieu une croissance active, les noyaux sont plus nombreux. Dans le premier cas, la structure des noyaux peut être facilement observée, mais non dans le deuxième cas. Chaque noyau quiescent comporte une membrane nucléaire, un réseau chromatique et un nucléole. Le réseau nucléaire paraît être distinctement granuleux. L'auteur n'a jamais pu clairement observer la division nucléaire dans le mycélium bien qu'il ait souvent observé des aspects analogues à des figures de mitose.

Les conidiophores d'après Wager se produisent sur la baside en grand nombre, juste au-dessus de l'épiderme de la tige, de la feuille ou du fruit. Le cytoplasme et des noyaux passent du mycélium dans la baside. Le mycélium se ramifie beaucoup ; il est abondant dans la région où les basides sont nées ; la membrane cellulaire surtout dans les stades ultérieurs est très épaisse, et se colore facilement par l'hématoxyline. Dans la baside, il n'existe pas de fusion de noyaux. Chez *Cystopus*, 5 à 8 noyaux et une fraction de cytoplasme s'accumulent au sommet de la baside, puis une cloison transversale forme la conidie, comme l'ont montré Zalewski et Mangin. Ces noyaux restent indivis et chacun d'entre eux devient le noyau d'une zoospore. Chaque noyau est entouré dès le début, par une masse de cytoplasme dense et granuleux qui en atténue beaucoup la visibilité, car ces granules cytoplasmiques sont fortement chromophiles. Ces noyaux possèdent une membrane nucléaire, un nucléole et un réseau nucléaire. Ils sont peut-être un peu plus gros et plus distincts que ceux du mycélium.

Les recherches si complètes de divers savants sur les organes de la reproduction asexuelle et le mycélium que nous venons d'exposer limitaient notre tâche ; nous nous sommes donc borné à signaler dans ces organes les caractères du cytome, formation qui n'avait jamais encore été décrite chez les Péronosporées.

Le mycélium du parasite est très ramifié, exclusivement

localisé dans les méats intercellulaires. Ce mycélium change de taille au gré des espaces intercellulaires où il circule. Parfois, on trouve des mycéliums très élargis et très ramifiés où le cytoplasme est réticulé avec de nombreux noyaux dans les mailles. Au contraire, on trouve aussi des mycéliums très minces dans lesquels le cytoplasme est pariétal avec quelques noyaux bien espacés et à peine visibles. Les mycéliums dont la croissance est très active, se trouvent généralement dans des endroits où les basides sont nées.

Dans les filaments mycéliens, en dehors des noyaux, on trouve de nombreux cytosomes ; ils sont sphériques, relativement gros et fortement chromatiques. Si le cytoplasme forme un réseau, ce qui est le cas ordinaire, ces sphérules sont situés dans les mailles, isolés ou groupés en chaînettes ; quand le cytoplasme est dense, les cytosomes se rassemblent en amas irréguliers.

La forme sphérique est la forme normale. Lorsqu'on rencontre des aspects en bâtonnets courts, ceux-ci représentent soit un stade de division, soit une simple déformation ; la chromatine peut disparaître des cytosomes et il n'en reste plus alors qu'une mince couche limitant la sphère.

Le mycélium se met en communication avec les cellules par des sortes d'ampoules ou suçoirs très petits. Sur une coupe mince, on trouve beaucoup de ces suçoirs dans les cellules, mais peu de mycélium. Cela confirme ce qu'a dit Wager « Les suçoirs indiquent souvent la présence du mycélium avant que celui-ci ait été observé ». Il est très difficile de bien établir leur relation avec le mycélium, à cause de la petitesse du tube de communication qui n'est pas facile à observer sur une coupe mince. La membrane de ces suçoirs est parfois très épaisse. Wager ne croit pas qu'il s'agit ici d'une véritable membrane, mais tout simplement d'un écartement du cytoplasme de la membrane tout autour. Le cytoplasme de ces suçoirs est parfois très dense ; on y trouve des cytosomes sphériques, fortement colorés, 5 à 8 environ,

mais pas de noyau ; on trouve une vacuole au centre de ces ampoules.

La reproduction asexuelle se fait au moyen de nombreuses conidies produites en chaînettes par des conidiophores courts, serrés les uns contre les autres. Les conidies sont sphériques ; elles renferment un cytoplasme hyalin, dans lequel il est facile de mettre en évidence les noyaux, au nombre de 5 à 7, c'est-à-dire en nombre égal à celui des zoospores que fournira la conidie. Tous ces noyaux viennent du mycélium et il n'y a pas de division lors de la formation de la conidie au sommet du filament claviforme. Il n'y a pas non plus de fusion dans les cellules basilaires, ce qui a été établi par beaucoup d'auteurs, notamment par Wager. Après avoir fourni un certain nombre de conidies le filament claviforme s'épuise, et il reste sans en produire de nouvelles ; sa membrane est assez épaisse et son cytoplasme ne renferme que deux à quatre noyaux. On rencontre des coussinets qui sont uniquement formés de ces filaments claviformes à l'état de repos.

Les conidies renferment de nombreux cytosomes dans un cytoplasme dense creusé de petites vacuoles ; leur forme est toujours sphérique. Ces conidies sont destinées à former des zoospores et l'on observe un groupement très caractéristique des sphérules chromatiques ; les cytosomes se disposent en cercle très régulièr autour de chaque noyau, au nombre d'une vingtaine ou davantage ; il se produit ainsi une répartition des cytosomes de la conidie entre toutes les zoospores. Cette disposition se retrouve dans les zoospores devenues libres et elle ne se modifie guère qu'au moment de leur germination en filament.

On peut donc affirmer que, dans la reproduction asexuelle, les cytosomes sont transmis aux zoospores par le mycélium, au même titre que les noyaux ; leur ensemble constitue, dans chaque zoospore, une forte réserve de chromatine.

2° Le *CYSTOPUS BLITI* (Pl. 6-8)

La description de cette espèce, donnée en 1899 par Stevens [30] est des plus complètes en ce qui concerne la structure des noyaux et la façon dont ils se comportent dans les organes reproducteurs ; aussi nos observations ne font-elles que confirmer le plus souvent sur ce point les résultats obtenus par ce savant, résultats devenus depuis longtemps classiques.

Cependant, au cours de nos recherches de vérification, il s'est trouvé qu'il y avait lieu de modifier certaines interprétations et de compléter aussi toute une partie du développement ; nous voulons parler de deux formations importantes du cytoplasme, d'une part le cytome dont l'existence était totalement inconnue, à l'époque où Stevens écrivait son travail et d'autre part le vacuome, sur lequel on n'avait que des données incomplètes et inexactes.

Ce champignon attaque *Amarantus Blitum.* Au mois de juin ou juillet, on voit sur les feuilles, rarement sur les tiges de cette plante, des taches blanches qui semblent des gouttes de chaux ; ce sont surtout des conidiophores. Plus tard, au mois de septembre et octobre, on voit apparaître, tout autour de ces taches blanches, des zônes bleuâtres. Dans ces zônes bleuâtres, on voit une quantité de grains dispersés ; si on les examine par transparence, on constate que ce sont des œufs.

Nous avons recueilli nos échantillons, à plusieurs reprises, dans les environs de Massy-Verrières, au bord de champs de navets.

A. *Formation du jeune oogone et de l'anthéridie.*

La formation du jeune oogone et de l'anthéridie a lieu, chez toutes les espèces de la famille de Péronosporées, par l'élargissement du mycélium. La différence entre le mycé-

lium large, qui est assez fréquent chez cette espèce, et le mycélium qui va donner naissance aux gamétanges est très facile à établir. Dans ce dernier cas, les noyaux sont étirés, les vacuoles anguleuses ; le cytoplasme présente des stries dues à un écoulement et le contenu se colore fortement. Lorsque le jeune oogone est bien plein de cytoplasme, (avec noyaux et cytosomes) venant du mycélium, il se sépare d'avec ce dernier par une cloison. Les noyaux dans le jeune oogone recouvrent leur forme normale et se distribuent dans le cytoplasme vacuolaire.

La jeune anthéridie se développe en même temps que l'oogone ; à cause de sa petite dimension, les transformations constatées dans le jeune oogone ne peuvent être décelées dans cette jeune anthéridie ; lorsqu'elle est bien formée, elle se sépare aussi par une cloison du mycélium maternel.

Aussitôt que les noyaux dans le jeune oogone ont repris leur forme normale, ils se mettent à augmenter de volume. Dans ces noyaux, on voit des granules distribuées dans les mailles du réseau. Parmi ces granules, on distingue facilement les nucléoles qui sont colorés en rouge, tandis que les autres granules sont colorées en violet par la triple coloration de Flemming. On peut dire que les noyaux de ce stade se préparent à la mitose. A ce moment, la membrane de l'oogone s'épaissit un peu.

Si on veut compter le nombre des noyaux qui se trouvent dans le jeune oogone et l'anthéridie, c'est le moment le plus propice. Nous en avons trouvé environ 200 dans le jeune oogone, et environ 20-30 dans la jeune anthéridie. Ces chiffres sont loin d'être rigoureux, car il faut tenir compte de la dimension des oogones et de celle des anthéridies qui peuvent quelquefois varier beaucoup.

Chez cette espèce, comme chez les autres espèces de Péronosporées, c'est toujours le jeune oogone qui envoie une sorte de hernie à l'anthéridie, avant que cette dernière lui envoie son tube fécondateur. Tout d'abord, on voit le cyto-

plasme dans le jeune oogone s'écarter un peu partout de sa membrane, sauf en face de l'anthéridie, point où se forme une masse épaisse et fortement colorable, de cytoplasme granuleux, qui marque le commencement de la formation de la papille. Wager a cru que cette masse secrétait une enzyme destinée à dissoudre la membrane de l'oogone ; il a donné aussi le nom de « receptive papilla » à cette hernie. La membrane de cette papille est assez mince. On ne sait pas si cette membrane se déchire et abandonne son contenu à l'anthéridie, ou si ce contenu retourne au contraire dans l'oogone. Cette dernière hypothèse nous semble plus probable. En tout cas, on ne trouve plus cette papille aux stades suivants. Peu après, on voit que l'anthéridie commence à former son tube fécondateur pour l'envoyer à l'oogone. Au commencement de la formation du tube, nul noyau de l'anthéridie n'y pénètre encore. Le tube est fortement colorable, avec du cytoplasme très dense (fig. 1, planche VI). Tous les noyaux de l'anthéridie sont à peu près semblables à ceux de l'oogone.

B. *Différenciation de l'oosphère multinucléée.*

Lorsque le tube a commencé à pénétrer dans l'oogone, la différenciation de l'oosphère à nombreux noyaux a lieu. Stevens a donné une description très détaillée de la façon dont l'oosphère rudimentaire se forme ; nous ne donnons ici qu'un résumé qui correspond d'ailleurs parfaitement à ce qu'a trouvé Stevens.

Cette opération consiste en un mouvement centrifuge du cytoplasme, entraînant les noyaux et les vacuoles. Tout d'abord, on voit le cytoplasme dans l'oogone s'accumuler en masses, que des vacuoles de différentes grandeurs séparent les unes des autres et en même temps de la membrane. Dans ces masses, formées de petites mailles à peine visibles, on remarque des granules assez nombreux, contrairement à ce

qu'a trouvé Stevens, qui nie leur existence. Les noyaux se trouvent généralement à la périphérie de ces masses (fig. 1, planche VI). Puis, ces masses cytoplasmiques se réunissent pour former des masses plus grandes, en expulsant en même temps les noyaux et les vacuoles vers l'extérieur. Peu après, ces grosses masses se fusionnent à leur tour, de sorte qu'à la fin, on ne trouve qu'un réticulum au centre, c'est l'oosphère jeune. Cette oosphère à ce stade consiste en une masse épaisse, presque homogène avec de toutes petites vacuoles uniformes ; lorsqu'elle est bien formée, elle est à peu près arrondie (fig. 3, planche VIII). Les noyaux expulsés se trouvent dans une zone lâche située entre l'oosphère qui vient de se former et les vacuoles expulsées qui forment le périplasme. Ces noyaux s'entourent de cytoplasme, de sorte que, bientôt l'ooplasme et le périplasme se touchent et se mélangent un peu ; il n'y a alors entre eux qu'une ligne de démarcation vague, la membrane primitive n'étant pas encore formée. Ce stade est appelé par Stevens, le stade de « zonation ».

Quand l'oosphère est bien formée, il ne reste plus du tout de noyaux dans l'ooplasme. Tous ces noyaux se groupent en cercle autour de l'oosphère (fig. 5, planche VIII). Ils sont à l'état de division, en général en métaphase au stade de différenciation de l'oosphère. D'après Stevens, la plupart de ces fuseaux sont généralement croisés avec la ligne de démarcation : l'un de leurs pôles se trouvant dans l'ooplasme et l'autre dans le périplasme. C'est ainsi qu'à la fin de la mitose, un noyau fils ira à l'ooplasme, l'autre restant dans le périplasme.

En se basant sur le nombre de fuseaux qui se trouvent dans cette position, on peut évaluer approximativement le nombre de noyaux fils qui rentreront dans l'oosphère. Stevens en a indiqué de 45 à 55. Nous en avons trouvé une trentaine environ dans une oosphère. Cette oosphère multinucléée est appelée par Stevens « compound oosphère ».

Après l'entrée des noyaux fils dans l'oosphère, la différenciation de cette dernière est complète. L'ooplasme ne se modifie pas ; il est formé par de toutes petites mailles uniformes qui dépassent à peine, en diamètre, la moitié de celui d'un noyau. Le périplasme est toujours vacuolaire, ses trabécules sont granuleux, avec des noyaux groupés dans les intersections de ces derniers.

Les noyaux de l'anthéridie se divisent en même temps que ceux de l'oogone ; on ne peut pas relever de différence entre ces deux sortes de mitoses. Au stade de différenciation de l'oosphère, le tube fécondateur a pénétré dans le périplasme jusqu'à la ligne de démarcation ; son contenu est alors fortement coloré, de sorte qu'on ne peut rien y distinguer. Ce n'est que plus tard, quand il pénètre dans l'oosphère, en endommageant un peu la ligne de démarcation, qu'on peut voir des noyaux dans son contenu.

Au cours de la différenciation de l'oosphère, il apparaît au centre une masse irrégulière, épaisse, fortement colorable, entourée de zones de cytoplasme colorées diversement, mais faiblement. C'est ce qu'on appelle généralement le coenocentre (fig. 3, planche VII). Chmilewsky l'avait pris tout d'abord pour un noyau ; Dangeard a montré autrefois que ce n'est pas un noyau ; Wager l'a pris pour un corps cytoplasmique attirant les noyaux sexuels ; Stevens a cru que c'était un organisateur de l'oosphère qui serait formé par plusieurs corps jaunes qui se trouvaient précédemment dans l'oogone. L'opinion de Wager est bien applicable au *C. candidus*, *C. Tragopogonis*, *Peronospora effusa*, et *P. parasitica*, car chez ces espèces, il n'y a qu'une paire de noyaux sexuels que le coenocentre peut attirer, tandis que, chez *C. Bliti*, on compte de nombreuses paires de noyaux de fusion ; toutes ces paires n'arrivent pas jusqu'au coenocentre, ce qui semblerait indiquer que ce dernier n'exerce ici sur les noyaux, qu'une attraction très minime, peut-être même nulle. D'ailleurs le coenocentre de *C. Bliti*, comme de *C. Portulacae*, est

beaucoup moins développé que chez les espèces que nous avons énumérées plus haut. Stevens était sans doute dans l'erreur en croyant que ce coenocentre est formé par les corps jaunes, car il n'a pas du tout la même coloration que ces derniers. Néanmoins, on trouve quelquefois de petits granules dans le coenocentre, notamment, chez *Cystopus candidus*. D'après toutes ces données et malgré les recherches que nous avons entreprises, il est vraiment difficile de se prononcer ; tout ce que l'on peut dire,c'est que le coenocentre est peut-être une agglomération de toutes petites granulations de nature inconnue qui sont plus ou moins pourvues de pouvoir d'attraction suivant les espèces. Puisqu'il existe dans presque toutes les espèces de Péronosporées, il joue certainement un rôle assez important.

Chez cette espèce, ce coenocentre apparaît au moment de la différenciation de l'oosphère ; il arrive au maximum de développement au moment où les noyaux fils issus de la première mitose rentrent dans l'oosphère et il disparaît immédiatement avant la fécondation, mais quelquefois, cependant, il persiste après elle.

C. *Mitoses simultanées dans l'oogone et l'anthéridie.*

Tous les noyaux qui se trouvent dans l'oogone se divisent en même temps. Au stade où les noyaux s'arrangent autour de l'oosphère rudimentaire, on les trouve généralement en métaphase, alors que, au commencement de la différenciation de l'oosphère, ils sont en prophase.

Les anaphases n'arrivent qu'au moment où la différenciation de l'oosphère est presque achevée. Ce ne sont pas là des règles absolues et les mitoses peuvent se produire, soit un peu en avance, soit au contraire en retard, mais, en tout cas, tous les noyaux sont presque au même stade à un moment donné.

En ce qui concerne la mitose, nous ne ferons que confirmer

ce qui a été trouvé par Stevens, qui a fait une étude très détaillée de la question.

Prophase. — La division nucléaire commence par l'allongement des noyaux et l'agglomération de la chromatine en petits granules irréguliers qui sont distribués dans le réseau de linine. Les nucléoles qui sont colorés en rouge par la triple coloration de Flemming, restent très nets à ce stade. Aux deux extrémités du noyau, on voit apparaître deux corps arrondis qui sont également colorés en rouge par la triple coloration de Flemming ; ce sont des centrosomes. Au fur et à mesure que les granules chromatiques se fusionnent pour donner un petit nombre de chromosomes, ces derniers s'organisent, se perfectionnent, puis se rassemblent au centre du noyau. A ce moment, les mailles du réseau commencent à disparaître ; on voit apparaître aux deux extrémités du noyau, des fibres rayonnant vers le centre ; c'est le fuseau qui commence à se former.

Métaphase. — Quand les chromosomes se rassemblent au centre du noyau, ils se mêlent et forment une sorte de plaque équatoriale. A ce moment, nous ne pouvons préciser la manière dont s'effectue la division, à cause de la petitesse des chromosomes. Entre la membrane nucléaire qui reste toujours intacte et le fuseau, il existe toujours un espace hyalin, dans lequel on distingue souvent un corps sphérique qui, par sa coloration et sa forme, s'identifie comme un nucléole. A cause de la persistance de la membrane nucléaire, la radiation extra-nucléaire n'existe pas chez cette espèce. Les deux centrosomes qui arrivent à leur maximum de développement à ce stade sont nets et bien réguliers aux deux pôles du fuseau. Les fibres du fuseau sont souvent bien régulières ; elles peuvent être allongées ou raccourcies suivant le milieu où elles se trouvent ; elles sont allongées dans les trabécules lâches, elles sont au contraire raccourcies dans les trabécules serrés.

Anaphase. — Quand les chromosomes ont fini leur divi-

sion, ils sont au nombre de 12 environ ; ils se divisent en deux groupes ; chaque groupe va vers un pôle avec une vitesse variable. A ce moment les deux pôles du fuseau perdent leur netteté.

Lorsque ces chromosomes arrivent aux pôles, ils se mêlent avec le centrosome ; ils sont beaucoup plus chromophiles qu'auparavant. Généralement le nucléole qui se trouve dans l'espace hyalin, se divise en deux ; chacune des moitiés s'achemine vers un pôle en même temps que les chromosomes. A ce stade, la membrane nucléaire commence à disparaître et les fibres fusoriales deviennent moins nettes à l'équateur, puis se brisent à nouveau, les deux groupes de chromosomes s'écartent un peu. Lorsque les chromosomes sont intimement mêlés, il apparaît tout autour une nouvelle membrane, le noyau fils s'arrondit, il est définitivement formé. D'après Stevens, la chromatine du noyau fils forme une sorte de croissant qui se trouve d'un côté du noyau. Le centrosome ne peut plus être distingué parmi les nombreux granules chromatiques, mais, par contre, les nucléoles restent très nets.

D. *Maturation de l'oosphère et de l'anthéridie.*

Les noyaux fils qui rentrent dans l'oosphère sont au nombre d'environ une trentaine. Après leur réorganisation, on voit nettement une membrane nucléaire, un nucléole et un réseau chromatique coloré faiblement dans chacun d'eux. Peu après, on voit que ces noyaux changent d'apparence ; ils augmentent de volume ; c'est la deuxième mitose qui commence. La deuxième mitose n'affecte que les noyaux qui sont dans l'oosphère.

En examinant attentivement, on s'aperçoit que la deuxième mitose diffère très peu de la première, sauf une coloration plus faible, une diminution de chromatine et un fuseau plus allongé, surtout dans l'anaphase et la télophase. Quand

les noyaux de l'oosphère ont terminé leur deuxième division, leurs noyaux fils passent à l'état de repos. Ils sont prêts pour la fécondation.

Nous avons dit plus haut que les noyaux de l'anthéridie se divisent en même temps que ceux de l'oogone ; plus tard, ils subissent encore une fois une division en même temps que ceux de l'oosphère. Au commencement de la formation de l'anthéridie, nous avons trouvé plus d'une trentaine de noyaux ; après les divisions, il y en a au moins cent vingt. Il n'y a guère de différence entre la mitose de l'anthéridie et celle de l'oosphère.

Le tube fécondateur pénètre dans le périplasme lorsque la différenciation de l'oosphère a commencé ; il atteint la ligne de démarcation lorsque la différenciation est presque terminée ; à ce stade, c'est-à-dire pendant la deuxième mitose, il commence à pénétrer dans l'oosphère, endommageant un peu la ligne de démarcation. Au fur et à mesure qu'il avance, il augmente de diamètre (fig. 1, 2, planche VI). Lorsqu'il arrive près du centre de l'oosphère, après la deuxième mitose, son extrémité se gonfle et devient sub-globulaire en même temps que la membrane s'amincit (fig. 4, planche VII). La membrane à la base de ce tube est très épaisse, ce qui réduit beaucoup la lumière du tube. A cause de l'étroitesse du diamètre à la base, les noyaux mâles entrent dans le tube un à un, à la file, mais lorsqu'ils arrivent au voisinage de l'extrémité, ils forment plusieurs files et sont très serrés (fig. 5, planche VII). Il est très difficile de compter les noyaux dans le tube, car il est fortement coloré. Stevens en a fixé le chiffre à une centaine. Si l'on en juge par le nombre de noyaux qui restent dans l'anthéridie (une quinzaine environ) il serait plus exact de dire 80-100.

Au moment où les noyaux mâles commencent à pénétrer dans le tube, ils ont une forme normale, mais lorsqu'ils arrivent à l'extrémité du tube, serrés les uns contre les autres, ils changent de forme et deviennent pointus aux deux bouts.

C'est dans leurs extrémités antérieures que se trouvent les nucléoles entourés par de la chromatine, au fur et à mesure que le tube fécondateur s'élargit, l'anthéridie devient de plus en plus vacuolaire. Mais le cytoplasme ne quitte jamais entièrement cet organe.

E. *Fécondation.*

Dans l'oosphère, le nombre des noyaux femelles résultant de la deuxième division varie entre 80 et 100 ; c'est presque le même chiffre que celui des noyaux mâles contenus dans le tube fécondateur. A ce moment, tout est prêt pour la fécondation. La membrane de l'extrémité du tube fécondateur étant extrêmement mince, se déchire très facilement. Aussitôt qu'elle a disparu, son contenu est libéré dans l'oosphère. Le tube apporte, en dehors de nombreux noyaux mâles, du cytoplasme mâle. C'est ainsi qu'on peut voir, au centre de l'oosphère, une masse cytoplasmique très colorable, pleine de noyaux. Après leur libération, ces noyaux mâles se mettent en mouvement et vont rejoindre les noyaux femelles (fig. 1, planche VII). Dans leur mouvement, ils traînent derrière eux une queue de cytoplasme. Ils sont un peu allongés et dans leurs extrémités antérieures, on distingue encore le nucléole et un peu de chromatine.

Lorsque le noyau mâle s'approche du noyau femelle, on voit apparaître dans le premier, un réseau de linine très faible. Des deux noyaux sexuels en contact, c'est toujours le mâle qui est le plus petit, mais il augmente de volume, de sorte qu'à la fin, les deux noyaux sont à peu près égaux. Bientôt, à leur point de contact, la membrane disparaît, c'est la fusion qui commence. Tout d'abord, les deux noyaux en fusion prennent la forme d'un haltère, puis quand la fusion s'avance, ils deviennent sphériques (fig. 1, 6, planche VII). Dans une seule coupe, on peut trouver de nombreuses paires de noyaux aux différents stades de fusion. Dans une oos-

phère tout entière, leur nombre peut atteindre jusqu'à 100, il y a toujours dans l'oosphère un petit excès de noyaux mâles ; à la base du tube fécondateur, il en reste aussi quelques-uns. Nous ne savons pas, s'il y a fusion de nucléoles ; mais, comme à la fin de la fusion, on ne trouve qu'un seul nucléole (quelquefois deux) dans le noyau à l'état de repos, il y a toutes raisons de croire que cette opération a lieu. Aussitôt que la fusion est achevée, les noyaux passent à l'état de repos. Si l'on en juge par la variété des stades de fusion qui se trouvent sur la même coupe, on peut penser que la fusion s'effectue lentement. La fusion des noyaux a toujours lieu à l'état de repos. Le tube fécondateur, après la libération de son contenu, disparaît complètement dans l'oosphère. Ce n'est que dans le périplasme qu'on en trouve des traces, qui seront peut-être incorporées à la membrane qui va se former. Après la fusion des noyaux, l'ooplasme change d'aspect ; au lieu d'un fin réticulum, il y a de grosses vacuoles. A ce stade, une véritable membrane se forme autour de l'oosphère, au lieu d'une simple démarcation, comme auparavant. Avant la formation de cette membrane, il se produit un vide séparant l'ooplasme du périplasme, c'est dans cet espace libre que la membrane se forme. Cette membrane « primitive » se forme au dépens du périplasme et de l'ooplasme ; elle est homogène, claire, sans striations, régulière en courbure et en épaisseur (fig. 2, planche VI).

F. *Maturation de l'oospore.*

La maturation de l'oospore consiste en la formation de l'exospore et de l'endospore. Stevens a distingué dans cette formation 3 périodes. La première période consiste en la formation partielle de l'exospore, la seconde en l'achèvement de l'exospore et la formation de la première couche de l'endospore ; la troisième est la formation de la deuxième couche de l'endospore. Cette division en périodes paraissant très

exacte, nous les suivrons dans notre description. Avant la formation de ces membranes, nous avons constaté, comme d'ailleurs Stevens, que, dans les vacuoles de l'ooplasme, il se forme des masses irrégulières de matières gélatineuses colorées en bleu par la triple coloration de Flemming. Ces masses se trouvent généralement à la périphérie de l'oosphère et les noyaux se retirent vers le centre de cette dernière. Ces masses, d'après Stevens, ont une importance capitale pour la formation de l'endospore.

A ce moment, les trabécules de l'ooplasme s'épaississent un peu, tandis que le périplasme ne change pas.

Première période. — Formation partielle de l'exospore. Tout d'abord, à l'intérieur de la membrane primitive, se forme une couche de substance semi-transparente, traversée par de nombreux canalicules droits, serrés les uns contre les autres. C'est ce que Wager appelle la « columnar condition ». A côté de cette couche ainsi striée, on trouve dans la même substance semi-transparente des masses courbées de substance noire de nature inconnue qui prennent la forme de soucoupes ; ces masses s'étendent latéralement, se touchent et rebroussent. C'est ainsi que les côtés du réseau de la coque se forment.

Deuxième période. — Achèvement de l'exospore et formation de la première couche de l'endospore. Cette première couche de l'endospore s'est formée à l'intérieur de la membrane primitive, donc aux dépens de l'ooplasme. Au commencement de la formation de ces membranes, nous avons déjà signalé l'apparition de masses gélatineuses bleues à la périphérie de l'oosphère. Aussitôt que la deuxième couche de l'endospore est achevée, ces masses disparaissent complètement de l'oosphère, ce qui nous fait penser à leur attribuer un rôle dans la formation des deux couches de l'endospore. D'ailleurs, il faut remarquer que, lorsque l'endospore est tout à fait jeune, elle se colore de la même teinte que ces masses gélatineuses. Ce n'est que plus tard qu'il change de couleur.

Troisième période. — Formation de la deuxième couche de l'endospore. Cette deuxième couche se forme à l'intérieur de la première. Il est vraiment difficile de distinguer ces deux couches de même nature, mais, on peut remarquer quelquefois la coupure entre les deux, qui est très nette. En tout cas, ces deux couches de l'endospore sont des membranes homogènes, transparentes, régulières en épaisseur et en courbure.

Au cours de la formation de ces membranes, de nombreux globules se forment au centre de l'oosphère. Ces globules vont se fusionner entre eux en donnant un gros globule central, qui repose sur un substratum qui se colore différemment (fig. 4, planche VIII). Dans ce globule, on constate la présence de corps réfringents qui sont peut-être des cristaux. Quant au globule lui-même, il est constitué par une agglomération de corpuscules métachromatiques reposant dans une grosse vacuole centrale. Les nombreux noyaux : 80-100 environ, sont distribués pêle-mêle dans la couche pariétale de l'ooplasme. Ils sont à l'état de repos. L'ooplasme, à ce stade, est finement vacuolaire et granuleux.

G. *Cytome et Vacuome.*

Chez *C. Bliti*, au cours de la formation de l'œuf, Stevens [29] a trouvé trois sortes de substances qui se présentent sous la forme de globules sphériques oléagineux. Il ne croit pas que ce soient de véritables graisses parce qu'elles ne répondent pas aux réactions microchimiques des graisses, (*loc. cit.*, p. 228). D'après lui, la première sorte de pseudo-graisse est très répandue dans le jeune oogone, dans l'oosphère et dans le cytoplasme de l'oospore ; elle se présente sous la forme de petits globules plus gros là où les mailles de périplasme sont plus larges, plus petits là où les mailles de l'ooplasme sont plus fines. La deuxième sorte de pseudo-graisses se présente en très petite quantité sous forme de

8 à 10 globules dans le jeune oogone ; ces globules n'ont pas la même coloration que ceux de la première catégorie mais, par contre, ils ont la même coloration que le coenocentre. La troisième sorte de graisses se trouve dans l'oospore mûre où elle se présente sous forme de globules d'une couleur jaune clair qui, en se fusionnant forment le globule central irrégulier (substance de réserve ?).

Parmi les auteurs qui ont étudié cytologiquement les Péronosporées, Stevens est peut-être le seul qui a émis des doutes sur la nature de ces formations que beaucoup d'auteurs ont confondues sous la désignation de graisses.

En réalité, nous pouvons actuellement, en nous aidant des nouvelles conceptions de P. A. Dangeard sur le vacuome, établir une classification normale dans ces pseudo-graisses. La première catégorie qui est formée de goutelettes de teinte brune ou noire dans les matériaux fixés au Flemming, ce qui est dû à l'action de l'acide osmique, doit être, sans aucun doute, rangée dans la catégorie de ces « corpuscules oléagineux » nés dans le cytoplasme qui sont si abondants dans la plupart des champignons.

La troisième catégorie de *globules* répond aux corpuscules métachromatiques, nés par précipitation de la solution colloïdale des vacuoles ; ce sont donc des endochromidies et le gros globule chromatique qui existe dans la grande vacuole centrale de l'oospore mûre n'est lui-même qu'une endochromidie.

Quant à la troisième sorte de substance grasse distinguée par Stevens et dont les rares corpuscules se colorent en noir par l'hématoxyline, il est impossible de l'identifier d'une façon certaine ; on pourrait cependant penser à quelques éléments du cytome, formation inconnue de Stevens et de ses successeurs.

Voici maintenant quelques précisions sur le cytome et sur le vacuome :

1° *Stade de la jeune anthéridie et du jeune oogone.* — Le

jeune oogone renferme un cytoplasme à grandes vacuoles arrondies ; les cytosomes y sont très apparents, mais assez peu nombreux tout d'abord. Plus tard, l'oogone ayant augmenté considérablement de volume, et son cytoplasme étant devenu réticulé avec mailles assez larges ; le nombre des cytosomes augmente jusqu'à atteindre sur une seule coupe le chiffre de plusieurs centaines (fig. 2, planche VII). Ces cytosomes sont ordinairement sphériques et ont tous la même grosseur. Nous avons parfois trouvé dans le jeune oogone des aspects en bâtonnets placés suivant les trabécules du cytoplasme et des aspects où les cytosomes sphériques sont appariés ; ces derniers représentent certainement des stades de division. Des corpuscules métachromatiques ou endochromidies existent à l'intérieur des vacuoles ; parmi ces endochromidies, il en est qui dépassent la grosseur des noyaux. Dans l'anthéridie qui s'applique sur la membrane du jeune oogone, on compte, sur une section, une cinquantaine de cytosomes sphériques ou davantage. On y rencontre quelquefois des aspects en bâtonnets courts (fig. 2, planche VII).

2° *Stade de différenciation de l'oosphère.* — Nous savons que, au commencement de la différenciation de l'oosphère, il se forme des masses cytoplasmiques, irrégulières. D'après Stevens, ces masses sont homogène, mais grâce à l'emploi des techniques mitochondriales, nous avons trouvé à leur intérieur, non seulement des cytosomes sphériques, mais des aspects en bâtonnets, ce qui pourrait faire penser à l'existence d'une division à ce stade (fig. 1, planche VI).

Lors de la différenciation de l'oosphère qui précède l'acte fécondateur, on observe un partage des cytosomes de l'oogone entre le périplasme et l'ooplasme ; dans le périplasme, la structure reste largement réticulaire et les cytosomes, faciles à mettre en évidence, vont rester apparents et groupés pendant très longtemps ; dans la jeune oosphère, au contraire, le cytoplasme s'organise en un très fin réticulum : les cytosomes sont plus petits que dans le périplasme et ont

parfois l'aspect de bâtonnets ; on les distingue parfois difficilement des précipitations très fines de métachromatine du vacuome. Dans le tube fécondateur, qui commence à pénétrer dans l'oogone, et dans l'anthéridie, le cytoplasme est tellement dense et la coloration tellement forte qu'on ne peut rien distinguer (fig. 2, planche VI).

3º *Stade de la première mitose.* — A ce stade, la zonation est presque terminée ; dans l'oosphère rudimentaire, on trouve des cytosomes sphériques et quelques aspects en bâtonnets. Ils sont beaucoup moins nombreux que les cytosomes du périplasme qui sont toujours sphériques. Dans les vacuoles du périplasme, il y a toujours des précipitations métachromatiques plus ou moins grosses suivant la taille des vacuoles (fig. 5, 3, planche VIII).

4º *Stade de la deuxième mitose.* — A ce stade, le nombre des cytosomes dans le périplasme reste inchangé, mais les aspects en bâtonnets de l'oosphère se multiplient beaucoup. Dans l'anthéridie, on peut distinguer des cytosomes sphériques, sauf dans le tube fécondateur dont le contenu est trop fortement colorable. Pourtant, nous avons pu trouver dans une préparation où le tube fécondateur avait été coupé en travers, de nombreux cytosomes et 4 à 5 noyaux (fig. 5, planche VII). Dans une autre coupe, nous avons rencontré des cytosomes groupés en plusieurs endroits du périplasme (fig. 3, planche VI ; fig. 1, p'anche VII).

5º *Stade de la fécondation.* — A ce stade, les aspects en bâtonnets disparaissent presque tous dans l'oosphère, où il ne reste que des cytosomes sphériques. Dans le périplasme, en dehors des cytosomes sphériques, il y a des précipitations métachromatiques de toutes grandeurs dans les vacuoles. Les cytosomes dans l'anthéridie sont assez nombreux, bien que beaucoup d'entre eux aient été envoyés dans le tube fécondateur (fig. 4, planche VII). Nous savons que le coenocentre s'entoure de plusieurs zones cytoplasmiques. Dans ces zones, on trouve de nombreux cytosomes sphériques (fig. 3,

planche VII) qui se dispersent dès que la disparition du coenocentre a lieu. Lorsque le tube fécondateur libère son contenu, celui-ci apporte à l'oosphère, en dehors de noyaux, et du cytoplasme, les cytosomes sphériques d'origine mâle (fig. 3, planche VI).

6° *Stade de fusion.* — A ce stade, on trouve des cytosomes sphériques et on retrouve des aspects en bâtonnets. Nombreux sont les cytosomes qui entourent les noyaux en fusion. Au centre de l'oosphère, le cytoplasme d'origine mâle qui vient d'être libéré du tube fécondateur, reste encore dense, mais on peut y trouver de nombreux cytosomes provenant de l'anthéridie. Dans le périplasme, les cytosomes sphériques sont nombreux et groupés en plusieurs endroits. C'est un phénomène que nous n'avons pu trouver chez d'autres espèces (fig. 1, planche VII).

7° *Stade de la formation des membranes de l'œuf.* — A ce stade, on ne trouve rien que des cytosomes sphériques dans la couche pariétale du cytoplasme de l'oospore ; ils paraissent plus gros que ceux des stades précédents (fig. 4, planche VIII), mais sont, par contre, moins colorables ; parfois, la chromatine a disparu des cytosomes, il ne reste plus alors qu'une enveloppe mince limitant la sphère.

Deux points intéressants peuvent être dégagés de cette description :

1° Chez cette espèce, les aspects en bâtonnets restent souvent dans les trabécules du cytoplasme ; plusieurs représentent certainement des stades de division, car, nous avons vu souvent des stades où les bâtonnets s'étranglent au milieu, puis se divisent en deux.

2° Une autre particularité est à remarquer, c'est que les cytosomes sphériques se groupent en plusieurs endroits du périplasme. Ceci n'existe pas chez d'autres espèces.

Conidies. — On sait que les conidies des *Cystopus* sont produites en chaînettes par des conidiophores courts, serrés

les uns contre les autres ; les travaux de Mangin ont éclairci leur mode de formation.

Les grosses conidies à forme triangulaire existent chez cette espèce. Le dimorphisme qui est très évident chez *C. Portulacae* est aussi net chez *C. Bliti*. Les conidies chez cette espèce sont plus grosses en haut qu'à la base.

Le cytoplasme dans la conidie, forme des mailles qui sont plus grosses au centre et plus serrées à la périphérie ; parfois, les vacuoles se rassemblent au centre de la conidie. Il y a quatre à six noyaux. Ces noyaux sont munis d'une membrane nucléaire, d'un nucléole et d'un réseau chromatique granuleux. On ne trouve pas de division de noyaux dans la conidie, ni dans la baside, claviforme ; les noyaux sont donc transmis aux conidies par le mycélium.

Les conidies renferment de nombreux cytosomes de forme toujours sphérique. Si la conidie est destinée à fournir un filament germinatif, la disposition des cytosomes reste quelconque ; si, au contraire, cette conidie doit former des zoospores, comme c'est le cas chez cette espèce, on observe un groupement très caractéristique des sphérules chromatiques ; les cytosomes se disposent en cercle très régulièrement autour de chaque noyau, au nombre d'une vingtaine ou davantage ; il se produit ainsi une répartition des cytosomes de la conidie entre toutes les zoospores ; cette disposition se retrouve dans les zoospores devenues libres et elle ne se modifie guère qu'au moment de leur germination en filament.

On peut donc affirmer que, dans la reproduction asexuelle, les cytosomes sont transmis aux zoospores par le mycélium, au même titre que les noyaux ; leur ensemble constitue, dans chaque zoospore, une forte réserve de chromatine (Note du 25 mai 1916, Comptes rendus de l'Académie des Sciences, t. 182, page 1256).

Basides. — Les basides claviformes en pleine croissance contiennent 6 à 8 noyaux et de nombreux cytosomes sphériques,

qui sont distribués dans les mailles du cytoplasme vacuolaire. Il n'y a pas de division des noyaux ni des cytosomes dans la baside. Après avoir fourni un certain nombre de conidies, le filament claviforme s'épuise, et reste sans en produire de nouvelles ; sa membrane est assez épaisse, et son cytoplasme ne renferme plus que 2 à 4 noyaux.

Mycélium et suçoirs. — Les hyphes sont irrégulières en grandeur et leur contour est variable ; la ramification est très irrégulière aussi, et dépend de la forme des espaces intercellulaires. Le cytoplasme que renferme l'hyphe s'arrange en réseau avec des mailles nombreuses. Il est rare de trouver chez cette espèce un cytoplasme peu abondant ne formant qu'une couche mince sur la membrane de l'hyphe, comme c'est le cas chez *C. candidus*. Le mycélium qui fournit les basides est particulièrement riche en cytoplasme.

Dans le mycélium, les noyaux sont assez espacés ; ils sont munis d'une membrane, d'un nucléole et d'un réseau granuleux, comme ceux des conidies. Ils paraissent un peu plus gros que ces derniers.

C. Bliti montre de nombreux cytosomes dans ses filaments mycéliens ; ils sont sphériques, relativement petits et fortement chromatiques ; si le cytoplasme forme un réseau, ce qui est le cas ordinaire, ces sphérules sont situées sur les mailles, isolées ou bien en chaînettes ; quand le cytoplasme est dense, les cytosomes peuvent être rassemblés en amas irréguliers. La forme sphérique est la forme normale et lorsqu'on rencontre des aspects en bâtonnets courts, ceux-ci représentent, soit un stade de division soit une simple déformation par étirement ; parfois, la chromatine a disparu des cytosomes ; il ne reste plus qu'une enveloppe mince limitant la sphère.

Les suçoirs sont de petites saillies sphériques envoyées dans les cellules par le mycélium ; ils sont souvent en nombre considérable, si bien qu'avant de voir le mycélium, on voit d'abord les suçoirs. Ils ne contiennent pas du tout de noyaux,

mais de nombreux cytosomes sphériques. Ces derniers remplissent presque entièrement leur cavité. Le cytoplasme dans les suçoirs est très dense, et fortement colorable ; leurs tubes de communication avec le mycélium ne sont pas faciles à voir, à cause de leurs petites dimensions. La membrane du suçoir est assez mince, et le cytoplasme refoulé à la périphérie.

3° Le *CYSTOPUS PORTULACAE*

Dans l'étude de cette espèce, nous n'avons guère à tenir compte que de deux mémoires, l'un dû à Stevens [31] et l'autre à Berlèse [2] pour comparer les résultats et chercher la cause des divergences d'interprétation qu'on y rencontre.

Nous donnerons d'abord une analyse du travail de Stevens le plus important des deux, sinon le premier en date.

Les premiers stades des deux gamétanges chez *C. Portulacae* ne diffèrent pas beaucoup de ceux décrits chez *C. Bliti*. Les noyaux y sont beaucoup plus nombreux que dans n'importe quelle autre espèce de *Cystopus* (300 à 400 par oogone) et par contre, plus petits.

L'agglomération du cytoplasme en plusieurs masses plus denses, est le premier signe du développement de l'oosphère. Ces masses se fusionnent presque aussitôt en une seule. Le cytoplasme homogène au centre, présente à la périphérie une région vacuolaire constituant le périplasme. Puis, les noyaux se localisent à la limite du périplasme et de l'ooplasme. Ce stade est dit de « zonation » par Stevens ; les noyaux en division sont alors à la métaphase.

Immédiatement après la zonation, de nombreux noyaux en division orientent leur fuseau de telle façon qu'un des noyaux fils se trouve dans l'ooplasme. Ainsi l'oosphère contient beaucoup de noyaux ; leur nombre varie généralement entre 50 et 100.

Ces premiers noyaux de l'oosphère se divisent à nouveau

et ce sont les noyaux fils qui fonctionnent comme éléments sexuels femelles. Ici donc, comme dans les autres espèces de *Cystopus*, il y a deux mitoses dans l'oogone; la deuxième mitose affecte seulement les noyaux de l'oosphère ; elle diffère de la première par la disparition de la membrane nucléaire et la diminution des fibres du fuseau.

La formation du coenocentre a lieu un peu avant la zonation. Cet organe, qui est beaucoup moins évident et beaucoup plus éphémère chez cette espèce que chez *C. Bliti*, est en général de même nature.

Synchroniquement aux mitoses de l'oogone, deux mitoses ont lieu dans l'anthéridie, mais la différence que l'on peut établir entre la première mitose et la deuxième, dans l'oogone, ne peut être retrouvée dans l'anthéridie. Le cytoplasme de l'anthéridie se colore fortement par le violet de gentiane et ressemble au périplasme.

Une petite papille surgit de l'oogone à son point de contact avec l'anthéridie. Son développemment chez cette espèce, commence beaucoup plus tard que chez les autres espèces de *Cystopus*, généralement après la différenciation de l'oosphère ou même au cours de la deuxième mitose.

Le mode de formation du tube fécondateur est incertain ; ce dernier a une membrane fine bien définie et diffère beaucoup du tube gélatineux et gonflé de *C. Tragopogonis* et *C. candidus*, rappelant plutôt celui de *C. Bliti* ; il contient environ 150 noyaux ou plus. Les noyaux mâles ont une forme ovale, lorsqu'ils ont atteint l'extrémité du tube et leur fraction antérieure se colore plus intensément. Lorsque le tube est arrivé à son complet développement, il s'ouvre et laisse échapper les noyaux qui copulent avec les noyaux femelles de l'oosphère. Avant la fusion, les deux sortes de noyaux mâles et femelles, s'élargissent un peu, mais recouvrent, peu après, leur forme primitive. Au cours de la fusion, ils restent à l'état de repos. Après leur fusion, on trouve une oosphère contenant 100 à 200 noyaux qui passent l'hiver sans subir

de changements. Lorsque l'oospore mûrit, on assiste à l'accumulation de réserves nutritives et à la formation des structures protectrices. L'endospore de *C. Portulacae* ne comporte qu'une seule couche et non deux comme chez *Cystopus Bliti.*

Dans l'étude de cette même espèce, Berlèse arrive à des résultats un peu différents : nous donnons, ci-dessous, un résumé de son mémoire.

Division des noyaux dans l'oogone.

Les noyaux dans le *C. Portulacae* sont pourvus d'une membrane, d'un nucléole et de chromatine ; ils ont une apparence presque homogène avant la division. Les nucléoles disparaissent dès la prophase ; la chromatine devient granuleuse et les chromosomes visibles ; ce sont de courts éléments, presque sphériques, plongés dans une substance homogène faiblement colorable. Les chromosomes, quoique déjà très nets à la prophase, ne sont pas faciles à compter à ce stade ; c'est le stade de la plaque équatoriale qui est le plus favorable à leur numération. Berlèse en a trouvé de 12 à 16. Le fuseau, bien visible, est probablement formé par le nucléole, car, ce dernier disparaît, au cours de la division, sans laisser aucune trace. Berlèse n'a pas pu mettre en évidence, la radiation polaire, ni la centrosphère, même dans ses meilleures préparations.

Après la formation de la plaque équatoriale, la membrane du noyau perd de plus en plus de sa netteté. La disparition de la membrane nucléaire est le signe de la fin de la prophase, et le noyau entre, peu après, en métaphase. Berlèse n'a pas observé la division longitudinale des chromosomes. La plaque équatoriale subit une division parallèle ou perpendiculaire ; les chromosomes se divisent en deux groupes qui s'acheminent vers les deux pôles.

Berlèse n'a pas rencontré de divisions nucléaires dans

l'anthéridie ; tous les noyaux de l'anthéridie proviennent du mycélium sans subir aucune division. Dans le tube fécondateur, se trouve un peu de cytoplasme de l'anthéridie et un noyau seulement. Le noyau du tube fécondateur ne diffère ni de ceux de l'anthéridie, ni de ceux de l'oogone.

D'après Berlèse, quand le noyau mâle pénètre dans l'oosphère, il ne se trouve pas directement auprès du noyau femelle, comme l'a dit Wager, mais il effectue un certain trajet à travers le cytoplasme, pour aller à la rencontre du noyau femelle. Ce même auteur a pu compter, dans le noyau mâle de 10 à 16 chromosomes. Le noyau de fusion contient plus de la moitié des chromosomes que chacun des noyaux femelles n'en comporte. Normalement, il n'y a pas de réduction chromatique avant la fusion, mais au cours de cette dernière, se réalisent certaines conditions qui déterminent la réduction chromatique.

Chez les Péronosporées, la réduction chromatique s'opère pendant les divisions successives du noyau de fusion. Berlèse a trouvé 32 noyaux chez *C. Portulacae*, *Peronospora Ficariae*, *P. parasitica*, etc., comme Wager dans *C. candidus*. Ces noyaux ont un nombre de chromosomes deux fois plus grand que le noyau du mycélium.

La germination des œufs a lieu de la manière suivante :

Après la résorption de l'eau, les gouttelettes d'huile disparaissent, le cytoplasme devient homogène, se fragmente ; et dans chacune des parties résultant de cette fragmentation, pénètre un noyau (plus de cent parties sont ainsi formées dans chaque oospore). Les cellules sont mises en liberté et forment des zoospores au moment où l'exospore et l'endospore se fondent.

Au début de la germination, il y a division du noyau de fusion. Dans ces mitoses, le nombre des chromosomes est le même que dans les noyaux de l'oogone. D'après cette constatation, il est évident qu'il y a une réduction du nombre de chromosomes dans les 32 noyaux qui proviennent du

noyau de fusion. La conclusion de Berlèse est que la réduction chromatique a lieu au commencement de la période de germination. Le nombre des chromosomes serait réduit de moitié, puis chaque noyau fils émigrerait dans une zoospore.

Bien que cette même espèce ait été étudiée avec la même technique par Stevens et Berlèse, les résultats obtenus sont totalement différents. Berlèse trouve 30 à 40 noyaux dans un oogone avant la première mitose, et dit que ces noyaux se divisent plusieurs fois de suite, leurs nucléoles disparaissant à la prophase. Stevens compte de 300 à 400 noyaux dans l'oogone et établit qu'ils se divisent deux fois, leurs nucléoles persistant jusqu'à l'anaphase. Berlèse trouve 10 à 12 noyaux dans l'anthéridie, tandis que Stevens donne un chiffre nettement supérieur. Berlèse représente une structure de l'ooplasme beaucoup plus grossièrement vacuolaire que celle figurée par Stevens : ce savant n'a pas vu la papille réceptive, et sa description du tube fécondateur est différente de celle de Stevens au point de vue structure et contenu. Berlèse pensait que les chromosomes étaient visibles dans le noyau mâle au cours de la fusion et il les a même comptés. Au contraire, Stevens a démontré que la fusion des noyaux a lieu à l'état de repos. Berlèse décrit l'oosphère et le tube fécondateur comme uninucléés, tandis que Stevens a montré que tous deux sont nettement plurinucléés.

I. — Reproduction sexuelle.

Faute de matériel en quantité suffisante, il nous a été impossible d'étudier tous les stades, notamment ceux de la première et de la deuxième mitose, mais les quelques stades que nous avons étudiés, nous permettent de confirmer quelques points des travaux de Stevens et d'infirmer les résultats de Berlèse.

A. *Formation du jeune oogone.*

Chez cette espèce, le commencement de la formation du jeune oogone suit le même processus que chez les autres espèces du genre. Quand le jeune oogone vient de se former, le cytoplasme devient un peu plus lâche avec quelques grosses vacuoles dispersées de place en place ; les cytosomes distribués dans tout le cytoplasme sont nombreux. A ce stade, les noyaux commencent à grossir et les nucléoles grandissent également. Les noyaux de l'anthéridie ressemblent à ceux de l'oogone. Puis, les noyaux de l'oogone s'allongent, les nucléoles restant encore nets au centre et le réseau nucléaire apparaît. Peu après, les nucléoles deviennent moins faciles à distinguer, car d'autres granules apparaissent dans les mailles assez lâches du réseau.

D'après nos constatations, la formation de la papille qui est envoyée de l'oogone vers l'anthéridie, n'est pas plus tardive chez *C. Portulacæ* que chez les autres espèces de *Cystopus*, puisqu'elle a lieu au stade du jeune oogone comme chez les autres espèces (fig. 3, planche X). Dès que la papille a pénétré dans l'anthéridie, elle y laisse une masse cytoplasmique épaisse d'où ressort le tube fécondateur qui n'avance dans l'oogone que lentement, étant donné qu'au stade de la deuxième mitose, il a à peine franchi la ligne de démarcation (fig. 1, planche X). Au début, le tube court et rigide, ressemble beaucoup à une papille, ce qui nous fait supposer que Stevens a dû le confondre avec la papille car il dit que cette dernière se forme tardivement.

B. *Stade de « zonation ».*

La différenciation de l'oosphère commence presque en même temps que la première mitose. Au début, le cytoplasme de l'oogone montre plusieurs masses denses, finement va-

cuolaires qui se fusionnent ensuite pour donner l'oosphère rudimentaire (fig. 6, planche IX). Les noyaux en division se trouvent à la périphérie (fig. 6, planche IX) ; les noyaux fils pénètrent en grand nombre dans l'oosphère (fig. 4, planche X). Le chiffre de ces noyaux est loin d'être constant ; il y en a environ une cinquantaine (rien que dans une seule coupe, on peut en compter une dizaine). Ils sont petits, homogènes, fortement colorables. Peu après, ils grossissent et procèdent probablement à la deuxième mitose ; à ce moment, on y distingue nettement une membrane, un nucléole et un réseau chromatique.

L'ooplasme homogène est finement et régulièrement réticulé et l'on y trouve toujours des cytosomes sphériques ou allongés dans les trabécules (fig. 3, 4, planche X). Quand le périplasme possède des noyaux quelquefois groupés ensemble, et des cytosomes sphériques, on ne peut pas faire une distinction entre ces noyaux et ceux qui pénètrent dans l'oosphère. La membrane de l'oosphère n'est pas formée à ce moment, mais la ligne de démarcation est nettement visible et on observe quelquefois même une sorte de disjonction entre l'ooplasme et le périplasme.

Le coenocentre se présente, chez cette espèce, sous une forme très irrégulière, c'est une masse cytoplasmique, dense et homogène (fig. 4, planche IX) assez volumineuse, qui ne semble pas jouer un rôle très important ; elle apparaît dès la zonation et disparaît après la fusion.

C. *Stade de la première mitose.*

Après la formation de l'oosphère, les noyaux se rangent à la périphérie pour effectuer leur division. Nous ne pouvons préciser les modalités de division, car la fixation au Regaud n'est pas favorable à une telle étude (fig. 6, planche IX).

D. *Stade de la fusion des noyaux.*

Nous n'avons pas pu suivre tous les stades de la première et de la deuxième mitose chez cette espèce. Mais si l'on en juge par le nombre des noyaux de l'oosphère, on peut admettre que la deuxième mitose a lieu normalement. Le tube fécondateur qui s'est introduit dans l'oosphère ressemble beaucoup à celui de *C. Bliti* ; sa membrane, très mince à l'extrémité est au contraire épaisse à la base. Nous avons rencontré dans une de nos préparations ce tube coupé transversalement, on pouvait y distinguer de nombreuses files de noyaux ; le nombre de noyaux mâles envoyés de l'anthéridie au tube fécondateur est donc assez élevé. Tous ces noyaux mâles ont une forme ovale et sont serrés les uns contre les autres ; ils sont munis d'une membrane et d'un nucléole.

Nous retrouvons chez *Cystopus Portulacae* les mêmes stades que chez *C. Bliti*. L'oosphère est toujours multinucléée, ainsi que le tube fécondateur de sorte qu'au lieu de quatre noyaux copulant deux à deux comme l'affirme Berlèse, on trouve en réalité de nombreuses paires en fusion ; dans une seule section, par exemple, nous en avons compté une dizaine (fig. 4, planche IX).

La fusion de ces noyaux mâles et femelles doit s'effectuer lentement, car, même au stade où l'exospore est presque achevée, on distingue encore quelques paires de noyaux en voie de fusion. Immédiatement après la fusion, les noyaux paraissent homogènes, on n'y voit ni nucléole, ni réseau chromatique, tant ils sont chromophiles. Ce n'est que plus tard que l'on peut trouver ces noyaux à l'état normal.

E. *Stade de l'œuf formé.*

Lorsque la fusion des nombreuses paires de noyaux est achevée, l'ooplasme perd son aspect vacuolaire et devient dense, la structure finement réticulée de l'oosphère rudimentaire a disparu. A ce stade, on voit dans l'ooplasme de nombreuses sphérules de toutes grosseurs, fortement colorables qui se fusionnent pour former un gros globule central comme chez les autres espèces de ce groupe de champignons. Ces sphérules masquent souvent les noyaux de l'ooplasme (fig. 4, 7, planche IX) (fig. 2, planche X).

Le mode de formation de l'exospore et de l'endospore. chez ce champignon, semble beaucoup plus simple que chez les autres espèces. L'endospore se forme certainement plus tard que l'exospore et au dépens de l'ooplasme ; elle est sûrement monostrate comme le dit Stevens. Quelquefois, on voit une membrane très mince intercalée entre l'exospore et l'endospore. L'endospore est homogène, sans striations d'épaisseur et de courbure constantes (fig. 8, planche IX).

L'exospore est par contre nettement double ; elle est formée d'une couche interne relativement épaisse et non colorable, qui forme l'armature des ornements réticulés de la coque et d'une couche externe, très mince, normalement brune, colorable en rouge par la fuchsine, localisée sous forme d'îlots souvent perforés au centre dans les fossettes délimitées par le réseau que forme la membrane interne.

Les noyaux de l'œuf formé, sont presque aussi petits que les noyaux végétatifs et certainement plus petits que ceux de *C. Bliti*. Quand la formation de l'exospore et de l'endospore est achevée, l'ooplasme redevient finement vacuolaire et montre çà et là des noyaux et quelques cytosomes sphériques (fig. 8, planche IX).

F. *Germination de l'œuf.*

Nous n'avons pu observer (pas plus que Stevens d'ailleurs) la germination des œufs décrite par Berlèse, mais si nous tenons compte des observations faites par nous sur la germination des œufs de *Cystopus Tragopogonis*, il est vraisemblable d'admettre, jusqu'à nouvel ordre, que la description de Berlèse est exacte, sur ce point.

II. — Reproduction asexuelle.

Les *conidies*, conformément aux observations de Tulasne, présentent le phénomène de dimorphisme ; les premières forment la majeure partie des chapelets ; elles sont cylindriques, leur membrane est mince et incolore ; les secondes ne se trouvent qu'à l'extrémité des chapelets, elles sont plutôt rectangulaires et souvent vides ; leur membrane est épaisse et légèrement colorée en gris jaunâtre.

Les conidiophores communiquent avec le mycélium qui leur envoie les cytosomes et les noyaux. Les stades en bâtonnets du cytome ne pouvant pas être trouvés dans les conidiophores, il ne semble pas y avoir de division des cytosomes à ce niveau. Le conidiophore rempli de cytosomes sphériques et de noyaux (5-7 environ) s'étrangle progressivement vers le milieu de sa hauteur, de sorte qu'à la fin, le conidiophore et la conidie nouvellement formée ne sont plus en communication que par un orifice étroit.

Dans les conidies les plus jeunes, les cytosomes sont disséminées pêle-mêle, mais lorsqu'elles vieillissent et que leur position dans les chapelets devient par conséquent de plus en plus élevée, les cytosomes se rangent en cercles autour des noyaux. On peut compter de 2 à 4, quelquefois jusqu'à 5 groupements cytoplasmiques, périnucléaires dans chaque conidie ; chacun de ces groupes donnera plus tard une zoospore, par suite du clivage du cytoplasme.

Le *mycélium* renferme dans ses trabécules cytoplasmiques de nombreux cytosomes sphériques ; ils forment des amas ou des chaînettes. Quelquefois, la chromatine manque, de sorte que les cytosomes apparaissent sous la forme d'anneaux. Le mycélium est plus abondant là où se forment les conidiophores.

Les suçoirs sont souvent très colorés ; ils sont très nombreux, globulaires et bourrés de cytosomes sphériques ; on ne distingue pas très bien leurs points de communication avec le mycélium.

4° Le *CYSTOPUS TRAGOPOGONIS*

Cette espèce a fait l'objet en 1901 d'une étude remarquable de Stevens [30] ; nous allons en donner d'abord une analyse, avant d'exposer nos recherches personnelles.

Chez *C. Tragopogonis*, il y a une fécondation simple, c'est-à-dire qu'un seul noyau mâle est envoyé dans l'oosphère pour féconder le noyau femelle.

Les jeunes stades de cette espèce sont semblables à ceux de *C. Portulacae.* Le cytoplasme pénètre dans l'oogone, les noyaux grossissent, le cytoplasme se concentre au milieu et finalement on arrive au stade de zonation bien développé. Il y a une masse centrale d'ooplasme, dense, finement vacuolaire qui se différencie nettement du périplasme fibreux et fortement colorable. Cette région centrale qui contient un coenocentre très visible à ce moment est entièrement dépourvue de noyaux. Tous les noyaux en métaphase se trouvent dans le périplasme et c'est là qu'ils vont finir leur mitose. Après leur division, des noyaux fils rentrent dans l'ooplasme. Leur nombre est d'environ une cinquantaine.

Les noyaux primaires de l'oosphère subissent une deuxième division, qui se distingue de la première par l'aspect de la figure chromatique, et qui affecte seulement les noyaux de

l'oosphère. Jusqu'à ce stade, le développement de *C. Tragopogonis* ne diffère pas de celui de *C. Bliti* et *C. Portulacae*, puisqu'il a aussi une oosphère plurinucléée. Après la deuxième division, un seul noyau fils (rarement deux) vient en contact avec le coenocentre et c'est là qu'il grandit, jusqu'à atteindre plusieurs fois sa taille primitive.

Une étude de l'oosphère, après la deuxième mitose montre les noyaux femelles qui n'ont pas fusionné dans différents états de dégénérescence. Ils perdent leur réseau chromatique, leur membrane, mais leur nucléole persiste plus longtemps. Immédiatement après la deuxième division, ces noyaux en dégénérescence sont très nombreux ; mais quand le tube fécondateur met son contenu en liberté, ils disparaissent presque tous sauf le noyau sexuel au centre. Il est évident que l'oosphère, tout d'abord plurinucléée, ne devient uninucléée qu'après la deuxième mitose.

Le coenocentre apparaît un peu avant la zonation ; peu de temps après, il est bien développé et présente dans la section plusieurs zones de cytoplasme différentes comme densité et comme coloration. Dans les stades ultérieurs, les zones périphériques disparaissent et seule la région interne sphérique persiste et prend une apparence homogène. Au moment de la deuxième mitose, le coenocentre perd son apparence nette et devient grossièrement granuleux.

Le coenocentre attire les noyaux. Plusieurs noyaux viennent à son contact et même le pénètrent ; ils demeurent ainsi durant tous les stades de la deuxième mitose. Après la deuxième mitose, un petit noyau reste attaché au coenocentre (ce phénomène est peu net chez *C. Tragopogonis*). Quand ce noyau augmente de volume, le coenocentre devient plus granuleux et perd sa forme primitive, de sorte qu'à la fin, il apparaît simplement comme une masse granuleuse enveloppant partiellement le noyau femelle. Un petit nombre de noyaux en dégénérescence se trouvent dans l'ooplasme, qui garde encore sa structure finement alvéolaire.

Le tube fécondateur qui a une membrane fine, contient généralement plusieurs noyaux en dégénérescence et un ou deux qui sont plus gros et capables de fonctionner comme noyaux mâles. Lorsque le noyau mâle est libéré, il va à la rencontre du noyau femelle et prend une forme ovale.

Les deux noyaux sexuels sont en contact, c'est le mâle qui est le plus petit. La fusion n'a pas lieu tout de suite ; le noyau mâle grossit jusqu'à ce qu'il soit presque égal en volume au noyau femelle. Après cela, les deux noyaux à l'état de repos se fusionnent.

Avant que les réserves de nourriture soient accumulées, le noyau de fusion se divise, présentant une figure nucléaire énorme. Comme ces divisions se succèdent, les noyaux diminuent de volume, de sorte qu'à la fin, les noyaux de l'oospore sont de la même grandeur que les noyaux végétatifs, et leur nombre est probablement de 30 à 40. Quand l'oospore est mûre, elle montre dans ses membranes et dans son contenu des changements analogues à ceux des autres espèces de ce groupe.

Nos recherches ont permis de compléter sur plusieurs points cette étude de Stevens.

I. — Reproduction sexuelle.

A. *Formation du jeune oogone et de l'anthéridie.*

Le jeune oogone et la jeune anthéridie se forment suivant le procédé commun à tous les *Cystopus*. Dans le jeune oogone, il y a de nombreux noyaux distribués dans un cytoplasme nébuleux. Au commencement, ces noyaux sont petits et homogènes, puis ils grandissent et on distingue facilement leurs granules chromatiques, leur nucléole et leur membrane. Les noyaux dans le jeune oogone sont au nombre d'une centaine environ ; rien que dans une seule section, on peut en

compter une vingtaine. Dans la jeune anthéridie, on peut en trouver au total une vingtaine environ, qui sont distribués dans un cytoplasme épais, peu vacuolaire.

Au cours de nos recherches, nous n'avons pu trouver la papille réceptive ; cela ne veut pas dire qu'elle n'existe pas puisqu'elle se trouve dans toutes les espèces de *Cystopus*.

B. *Stade de zonation.*

Chez cette espèce, pour la zonation, il n'y a pas de rassemblement préalable du cytoplasme, comme chez les *Cystopus Bliti* et *C. Portulacae*, mais la différenciation de l'oosphère correspond peut-être à celle de *Cystopus candidus*, c'est-à-dire qu'elle consiste en une condensation du cytoplasme vers le centre et un exode des vacuoles et des noyaux vers la périphérie de sorte que, à la fin, une oosphère à toutes petites mailles s'est formée avec un périplasme bien colorable et largement vacuolaire à sa périphérie. A ce moment, les noyaux en métaphase se trouvent presque tous au bord de l'ooplasme, qui ne se distingue pas nettement du périplasme (fig. 2, planche XII).

C. *La première mitose.*

La première mitose affecte tous les noyaux dans l'anthéridie et dans l'oogone ; avant la zonation ces noyaux sont généralement en prophase ; au moment de la zonation, ils sont en métaphase. Ils nous a paru que le nucléole disparaît dès la prophase, car, lorsque survient la métaphase, nous n'avons pas réussi à le trouver à côté du fuseau. Les fuseaux de la première mitose sont généralement petits, avec la membrane nucléaire tout autour. On compte une douzaine de chromosomes dans la plaque équatoriale, et on voit nettement les centrosomes, qui se colorent autrement que

les chromosomes (fig. 2, planche XII). La plupart de ces fuseaux sont orientés perpendiculairement à la ligne de démarcation, de sorte qu'à la fin de la mitose, beaucoup de noyaux fils peuvent rentrer facilement dans l'oosphère. La membrane nucléaire disparaît à l'anaphase. Lorsque les deux groupes de chromosomes arrivent aux deux extrémités, ils se mêlent aux centrosomes. Pendant que les quelques fibres du fuseau, qui joignent encore les deux groupes de chromosomes, disparaissent, ces derniers s'entourent d'une membrane et les noyaux fils sont formés (fig. 2, planche XII). Beaucoup d'entre eux rentrent dans l'oosphère pour se diviser encore une fois. Leur nombre est d'environ une trentaine.

Au cours de la division des noyaux, il apparaît au centre de l'oosphère un corps très gros qui semble un amas de cytoplasme condensé, avec plusieurs zones plus ou moins épaisses se colorant différemment. Ce n'est pas autre chose que le coenocentre (fig. 3, planche XI, fig. 3, planche XII). Il exerce peut-être une influence sur les noyaux de l'oosphère. Les noyaux ont toujours leur chromatine localisée dans les extrémités antérieures, c'est-à-dire vers le coenocentre (fig. 3, planche XII). En dehors de cette apparition, le périplasme et l'ooplasme ne subissent pas beaucoup de changements ; une fois que la rentrée des noyaux s'effectue, la ligne de démarcation devient plus nette.

La deuxième mitose.

La deuxième mitose affecte les noyaux de l'anthéride et les noyaux de l'oosphère, elle diffère de la première par le fuseau qui est plus allongé et plus mince et par la diminution du contenu chromatique. Les noyaux en mitose dans l'oosphère forment une sorte de cercle autour du coenocentre qui prend une forme irrégulièrement sphérique. L'oosplame de-

vient un peu vacuolaire, tandis que le périplasme reste vacuolaire et fibreux, avec à ce stade des noyaux groupés.

Bien qu'il n'y ait qu'un seul noyau destiné à devenir le noyau femelle de fécondation, nous avons trouvé plusieurs fuseaux qui ont enfoncé leurs extrémités dans le coenocentre (*C. candidus*, fig. 1, planche III). Parmi ces fuseaux qui sont tous à peu près identiques, il est difficile de dire lequel va fournir le noyau femelle. Peut-être que celui qui s'enfonce le plus à l'intérieur du coenocentre a plus de chance de réussir. Il est vraiment curieux de voir deux ou trois fuseaux attirés par le coenocentre. Finalement un seul noyau reste attaché au coenocentre, les autres vont dégénérer dans l'oosphère (fig. 3, planche XI, fig. 3, planche XII). A ce moment, le tube fécondateur entre dans l'oosphère, il est très gélatineux et sa membrane est très mince (fig. 2, 5, planche XI). Puisqu'un seul noyau femelle a besoin d'être fécondé, le tube doit contenir un seul noyau mâle, ou deux exceptionnellement.

D. *Fécondation.*

Chez *Cystopus Tragopogonis*, comme chez *Cystopus candidus*, la fécondation consiste en la seule fusion d'un noyau mâle et d'un noyau femelle. Après la libération du contenu du tube fécondateur, celui-ci se retire, et le noyau mâle qui est un peu ovale à la sortie du tube, va à la rencontre du noyau femelle, c'est-à-dire vers le coenocentre. Le noyau mâle est toujours plus petit que le noyau femelle (fig. 5, planche XI). Avant la fécondation, les deux noyaux ont mis beaucoup de temps pour devenir 2 ou 3 fois plus grands que les noyaux originaux (fig. 5, planche XII). Ces deux noyaux se posent sur le coenocentre. Au moment de la fusion, on voit encore les traces du coenocentre autour des deux noyaux (fig. 4, planche XI). Bien que la fusion se passe à l'état de repos des noyaux, on distingue tout de même des

granules chromatiques distribués dans leurs réseaux nucléaires (fig. 5, planche XII). La fusion doit se faire assez vite, plus vite certainement que chez *Peronospora effusa,* puisqu'on ne peut pas trouver facilement les stades en forme d'haltère et de forme sphérique. De plus, on ne trouve pas à ce moment dans l'ooplasme d'autres noyaux que les deux noyaux sexuels en voie de fusion.

E. *L'oospore.*

Après la fusion d'une seule paire de noyaux mâle et femelle le noyau de fécondation se divise par une mitose sans doute réductrice. Dans les noyaux qui en proviennent la chromatine ne forme pas de filaments, mais se condense en une, puis deux masses, qui représentent sans doute une réunion des chromosomes : c'est alors que disparaît le nucléole (fig. 8 ; planche XII) ; la membrane nucléaire persiste jusqu'à la formation du fuseau. La membrane qui se colore en violet autour du noyau central ne peut pas être retrouvée au stade de fuseau. Le fuseau dans l'oospore est deux ou trois fois plus long que celui de la première mitose de l'oogone. Lorsque le fuseau s'est formé, on voit nettement dans certains cas deux masses chromatiques à l'équateur et deux centrosomes aux pôles ; mais, le nombre de chromosomes est très difficile à déterminer, car nous avons vu aussi un fuseau où l'on pouvait compter une douzaine de chromosomes (fig. 7, 8, planche XII). Quand les chromosomes arrivent aux deux pôles, ils se mêlent, s'entourent d'une membrane et les deux noyaux fils sont formés. Ces deux noyaux fils ne tardent pas à se diviser à nouveau et ainsi de suite jusqu'à ce que une trentaine de noyaux soient formés dans l'œuf. Dans l'oospore, les noyaux ne se divisent pas simultanément comme dans l'oogone, car on trouve souvent un seul fuseau en métaphase à côté des noyaux en prophase ou en anaphase (fig. 7, 8, planche XII).

Quand le noyau de fécondation commence à se diviser, il se produit dans l'oosphère 2 formations nouvelles ; des masses arrondies, colorées en bleu par la triple coloration qui contribuent certainement à la formation de l'endospore, et des corps jaunes qui se fusionnent entre eux pour former le globule central. A ce moment, à l'extérieur de la membrane primitive, se forme la couche striée, à canalicules aux dépens du périplasme avec des cytosomes sphériques et des noyaux en dégénérescence (fig. 7, planche XII).

Au cours de ces divisions successives des noyaux dans l'oospore, après la formation de la couche striée, la couche aux ornements et l'endospore se forment presque simultanément. Cette dernière a une seule couche comme chez *C. Portulacae* (fig. 8, 9, planche XII). Lorsque ces deux couches viennent de s'achever, et que les noyaux dans l'oospore ont fini de se diviser, on peut dire que l'œuf est formé. Dans l'œuf, on trouve un globule central, avec une couche pariétale de cytoplasme tout autour et enfin les 3 enveloppes. Dans la couche pariétale de cytoplasme, on trouve une trentaine de noyaux à l'état de repos et des cytosomes sphériques (fig. 6, planche XI). Ces noyaux sont pourvus d'une membrane nucléaire et d'un nucléole (fig. 9, planche XII). Le cytoplasme dans l'œuf formé est nettement alvéolaire.

F. *Cytome et Vacuome.*

Les cytosomes sphériques se trouvent à presque tous les stades. Ils sont nombreux dans les stades jeunes, mais, contrairement à ce qui a été vu chez d'autres espèces, les stades en bâtonnets ne paraissent ni fréquents, ni très nets (fig. 1, planche XI). Lorsque vient le stade de la différenciation de l'oosphère, la plupart des cytosomes sphériques ainsi que les précipités métachromatiques sont expulsés à la périphérie, mais dans l'oosphère jeune, on trouve des cytosomes qui paraissent plus petits que ceux du périplasme

(fig. 4, planche XI). Généralement les stades en bâtonnets font défaut dans l'oosphère jeune. Lorsque le coenocentre est formé et que les noyaux de l'oosphère commencent leur deuxième mitose, il n'y a pas beaucoup de changement parmi les cytosomes sauf que de petits corpuscules métachromatiques font leur apparition et se mêlent souvent aux cytosomes sphériques (fig. 4, planche XI).

Dans l'anthéridie, depuis son jeune stade jusqu'au stade de fécondation, il existe toujours des cytosomes sphériques. Au moment de l'ouverture du tube fécondateur, ce dernier apporte à l'oosphère non seulement un noyau de l'anthéridie mais aussi une partie du cytoplasme mâle et des cytosomes sphériques d'origine mâle (fig. 5, planche XI). Malgré cet apport d'une partie des cytosomes mâles, les cytosomes dans l'oosphère ne sont pas très nombreux ; ils se distribuent dans les mailles de l'ooplasme devenues de plus en plus larges. Les cytosomes dans le périplasme ne forment pas de groupements comme chez *C. Bliti*.

Au moment où a lieu la fusion des deux noyaux mâle et femelle, il apparaît dans l'oosphère de nombreux corpuscules de différentes grosseurs qui masquent souvent les cytosomes et aussi les noyaux en fusion. Ces corpuscules vont se fusionner en formant un très gros globule central qui occupe la plus grande partie de l'oosphère. Dans la couche pariétale du cytoplasme de l'oospore, on trouve en dehors de nombreux noyaux, des cytosomes qui paraissent un peu plus gros que ceux des stades précédents (fig. 6, planche XI).

Les vacuoles et les précipités mitachromatiques sont abondants dans les stades jeunes. Quand les grosses vacuoles et les grosses précipitations sont expulsées à la périphérie, il ne reste plus dans l'ooplasme que toutes les petites vacuoles à peine visibles, dans lesquelles on trouve toujours de petites précipitations métachromatiques. Dans le stade de fusion, on trouve beaucoup de corpuscules de différentes grosseurs, soit dans les vacuoles, soit dans les trabécules, il

est parfois difficile de les distinguer. Dans le périplasme, il y a toujours de grosses vacuoles avec leurs nombreux précipités métachromatiques. Dans les endochromidies d'une certaine grandeur, on distingue souvent des petits corps réfringents dont la nature exacte reste indéterminée (fig. 9, planche XII).

G. *Germination des œufs.*

Si nous n'avons pas pu faire germer les œufs de *C. Portulacae* comme Berlèse, nous avons pu en revanche, observer dans la nature la germination de ceux du *C. Tragopogonis.*

Tout d'abord, nous constations la disparition du gros globule central qui constitue une partie très visible de l'oospore. Les noyaux dans l'oospore sont régulièrement répartis dans le cytoplasme qui est à peu près homogène. Peu après, autour de chaque noyau se produit une sorte de condensation du cytoplasme qui entraîne nécessairement des clivages. A ce moment, les cytosomes sphériques, qui sont nombreux dans l'oospore, se groupent autour de chaque noyau, en formant des cercles plus ou moins réguliers. L'aspect d'ensemble de l'oospore comporte de nombreuses portions cytoplasmiques dont chacune contient au centre un noyau qu'entourent une vingtaine de cytosomes ou même davantage. Tout d'abord dans l'intervalle de ces portions cytoplasmiques, il y a de petites vacuoles qui, au fur et à mesure que le cytoplasme se condense autour du noyau, s'élargissent de plus en plus, rendent le clivage de plus en plus accentué. Ce mode de formation des zoospores dans l'œuf, rappelle un peu celui des spores dans le sporange de certains Mucorinées qui ont été étudiés par Mme Moreau. Finalement les portions cytoplasmiques se séparent et les zoospores deviennent libres.

Le groupement des cytosomes autour de chaque noyau dans l'oospore en germination, rappelle celui qui se produit dans les conidies ; cette disposition si caractéristique est particulièrement remarquable.

II. — Reproduction asexuelle.

Dans cette espèce, nos observations n'ont porté que sur la manière d'être du cytome et la distribution des cytosomes dans le *mycélium*, les conidiophores et les conidies.

Les cytosomes sont distribués pêle-mêle dans les conidies nouvellement formées. C'est seulement à partir du troisième ou du quatrième rang à partir de la base du chapelet qu'elles commencent à faire cercle autour des noyaux. Entre ces groupements, on trouve quelquefois des petites vacuoles. Il y a environ 3 à 5 groupements dans chaque conidie, dont chacun va former une zoospore. Les cytosomes dans la conidie proviennent du mycélium au même titre que les noyaux. Dans les conidiophores, il n'y a pas de division du noyau, ni des cytosomes. Les cytosomes dans la conidie sont toujours sphériques.

Le diamètre du mycélium est grand ou faible suivant les dimensions des espaces intercellulaires. On trouve beaucoup de cytosomes sphériques dans les trabécules cytoplasmiques du mycélium ; ces cytosomes forment quelquefois des amas, quelquefois des chaînettes. Les stades en bâtonnets du cytome ne manquent pas dans le mycélium.

Les suçoirs ne sont pas faciles à distinguer, mais ceux que nous avons rencontrés sont remplis souvent par des cytosomes sphériques.

5° Le *PERONOSPORA EFFUSA*

Cette espèce était particulièrement intéressante à étudier parce qu'elle n'a pas été l'objet jusqu'ici de travaux détaillés. Berlèse qui l'avait étudiée [2], n'en parle que tout à fait incidemment dans son travail.

I. — Reproduction sexuelle.

A. *Développement du jeune oogone et de l'anthéridie.*

Les noyaux du jeune oogone de *P. effusa* sont irréguliers dans leurs formes et le contour du jeune oogone l'est également. L'oogone peut être intercalaire ou terminal ; il est formé par l'élargissement du mycélium. Il est facile de distinguer l'oogone nouvellement formé des parties larges du mycélium, à l'abondance du cytoplasme, à l'allongement des noyaux et aux vacuoles anguleuses. Ces phénomènes sont dus à l'écoulement du cytoplasme qui tend à remplir l'oogone élargi, comme l'ont fait remarquer beaucoup d'auteurs. L'oogone se sépare alors, à la base, par une cloison du mycélium végétatif ; il a pris la forme sphérique et les noyaux recouvrent leur forme normale. D'après Wager, les noyaux du très jeune oogone de *P. parasitica* montrent une membrane nucléaire et un réseau granuleux, mais pas de nucléole (ou du moins, si ce dernier existe, il est très petit, et difficile à distinguer des autres granules de réseau). Chez *P. effusa*, c'est quelquefois vrai pour le matériel fixé dans le liquide chromo-acétique, mais après fixation au liquide de Regaud, nous avons trouvé un nucléole bien net dans les noyaux à ce stade.

L'anthéridie se développe en même temps que l'oogone, mais, comme il n'y a pas d'écoulement sensible du cytoplasme, il n'y a pas de déformation des noyaux, ni des vacuoles ce qui est peut-être dû à la petite dimension de l'anthéridie. Finalement, elle se sépare de l'hyphe qui lui a donné naissance, par une cloison, et son contenu est analogue à celui de l'oogone.

Dès que les noyaux sont entrés dans l'oogone, ils augmentent de volume (peut-être même avant que les oogones ne soient séparés de l'hyphe-mère) ; leur réseau de linine et

leurs granules chromatiques deviennent plus nets et fortement colorables. Nous arrivons alors à un stade où les noyaux sont deux ou trois fois plus gros que les noyaux végétatifs ; les corps chromatiques et peut-être les réseaux de linine, se rejettent sur un seul côté du noyau, en formant une sorte d'arc, le contenu du reste du noyau devient incolore et n'est plus formé que de nuléoplasme homogène (fig. 3, 4, 6, planche XIII). La mitose va commencer (A ce stade, la membrane de l'oogone devient un peu plus épaisse).

C'est à ce moment que le nombre des noyaux peut être déterminé le plus facilement et le plus exactement. Nous en avons trouvé environ 40 à 50 dans l'oogone et 6 à 10 dans l'anthéridie, en prenant la moyenne dans deux ou trois coupes successives.

Le cytoplasme est un peu écarté par le fixateur employé de la membrane de l'oogone, sauf en face de l'anthéridie où il est en contact avec elle. Dans cette région, le cytoplasme renferme de nombreuses granulations colorables par la safranine ; si la différenciation n'est pas bonne, il prend l'aspect d'une masse rouge uniforme ; c'est là que se secrèterait, d'après Wager, une enzyme qui dissout la partie de la membrane de l'oogone en contact avec l'anthéridie. Il en résulte une perforation par où le cytoplasme de l'oogone fait hernie sous forme de papille de l'anthéridie (fig. 1, planche XIII). Il est curieux de constater que c'est précisément le cytoplasme femelle qui se déplace pour se rapprocher de l'organe mâle. Il est bien difficile de décider si la fine membrane qui sépare encore les deux protoplasmes de sexes opposés appartient à l'anthéridie ou à l'oogone, car le contenu de la papille retient fortement les colorants et n'est pas facile à étudier. Nous ne sommes pas certain que la fine membrane de cette papille se déchire ou que le contenu de celle-ci retourne intégralement dans l'oogone.

En tout cas, dans les stades suivants, on ne trouve plus trace de son existence. Plus tard, il y a un mouvement du cyto-

plasme dans la direction opposée et c'est l'anthéridie qui pousse un prolongement à l'intérieur de l'oogone, en passant par l'ouverture de la membrane. D'après Stevens, chez *C. Bliti*, la première pénétration du cytoplasme de l'oogone dans l'anthéridie est peut-être tout simplement due aux conditions inégales de turgescence dans les deux organes, mais, il est possible que ce phénomène ait aussi une signification phylogénétique. D'après Wager, la papille contribue à la perforation de la membrane de l'oogone, et à la formation du tube fécondateur. Il l'appelle comme on l'a vu la papille réceptive parce qu'ellemarque l'endroit par où le tube fécondateur pénètrera dans l'oogone. Le tube fécondateur, dont la membrane est mince, est rempli d'un cytoplasme dense facilement colorable ; il est entouré par une couche de cytoplasme dense de l'oogone (fig. 11, planche XIV). Les noyaux restent dans l'anthéridie et aucun d'eux n'entre dans le tube à ce moment. Rien ne peut distinguer ces noyaux de ceux de l'oogone. Ils sont en division, comme ces derniers.

B. *Différenciation de l'oosphère.*

Chez *Cystopus*, le procédé consiste essentiellement en un mouvement centripète du cytoplasme et aboutit à une accumulation du cytoplasme vers le centre de l'oogone, de telle manière que les vacuoles et les noyaux sont portés à la périphérie de la portion centrale plus dense, ainsi développée.

Tout ce que nous avons trouvé chez *P. effusa*, est contraire à ce qui a été décrit. Le procédé de différenciation de l'oosphère consiste en un mouvement centrifuge de cytoplasme ; il en résulte une sorte de refoulement du cytoplasme et des noyaux à la périphérie, de sorte que toutes les grosses vacuoles restent au centre. A ce moment, on voit bien que l'ooplasme est largement vacuolaire, et forme un contraste avec le périplasme dense muni de rares petites vacuoles à peine visibles (fig. 6, 8, 9, planche XIII). Comme tous les

noyaux passent à la périphérie de l'ooplasme, il ne reste plus du tout de noyaux au centre, ce qui est caractéristique de ce stade. A ce moment, la limite entre le périplasme et l'ooplasme est irrégulière, à cause du cytoplasme qui ne passe pas assez vite à la périphérie. Au fur et à mesure que les noyaux s'arrangent autour de l'ooplasme, en formant une sorte de cercle, cette partition devient plus régulière, mais il n'y a pas encore de membrane bien définie (fig. 9, planche XIII).

A ce stade, le tube fécondateur de l'anthéridie a déjà pénétré dans le périplasme jusqu'à la ligne de démarcation ; c'est seulement plus tard, à la fin de la mitose, qu'il pénétrera dans l'oosphère.

C. *Mitoses simultanées dans l'oogone et l'anthéridie.*

La mitose a lieu en même temps pour tous les noyaux de l'oogone (le cas de division d'un seul noyau est très exceptionnel). L'oogone, au stade de différenciation, montre souvent les mitoses à la métaphase ou encore à l'anaphase, alors que les noyaux sont en général en prophase avant ce stade. Il est clair que les anaphases ne peuvent se présenter qu'après que l'oosphère est bien différenciée, mais la prophase commence dès que l'oogone est vacuolisé. La différenciation de l'oosphère qui ne consiste qu'en un passage du cytoplasme à la périphérie, s'achève donc beaucoup plus vite. Avant la formation des fuseaux, les noyaux s'allongent, tandis que la chromatine forme des petites granules distribuées dans le nucléoplasme qui est une petite masse, homogène, un peu plus foncée que le cytoplasme (fig. 5, 7, planche XIII). Ces granules sont tout d'abord irréguliers et très nombreux ; puis, petit à petit, ils deviennent plus uniformes, mais moins nombreux, ce qui est probablement dû à la fusion de ces petits corps entre eux pour donner un petit nombre de chromosomes sphériques. Dès que ces chromosomes appro-

chent du centre, on voit apparaître, dans chaque extrémité du noyau allongé, un corps arrondi qui correspond probablement au centrosome (fig. 8, 10, planche XIII). Wager a dit pour *P. parasitica* qu'il n'y a pas de centrosome défini, sauf quelquefois un petit granule trouvé à chaque extrémité du fuseau qu'on peut prendre comme tel. Pour nous, chaque fois que l'on trouve un fuseau régulier chez *P. effusa*, il y a toujours un centrosome à chaque extrémité. Les fibres du fuseau de *P. effusa* ne paraissent pas très nettement définies, mais nous sommes sûr qu'elles existent dans la région claire du nucléoplasme (fig. 5, 7, planche XIII). Quant au fuseau tout entier, on le confond quelquefois avec le nucléoplasme. Parfois, il est oblong et presque transparent à l'intérieur de ce dernier.

Tous les fuseaux à la métaphase restent tout près de la ligne de démarcation qui sépare l'ooplasme du périplasme. La plupart de ces fuseaux restent tangents à la ligne ; il y en a à peine un ou deux qui la croisent (fig. 8, 10, planche XIII). D'après Stevens, les fuseaux qui croisent la ligne cèdent un noyau fils au périplasme et l'autre à l'ooplasme. Si cela est, il n'est pas étonnant de trouver un ou deux fuseaux qui croisent la ligne de démarcation chez notre espèce, puisqu'il n'y a qu'un ou deux noyaux fils qui rentrent dans l'oosphère.

Dès le commencement de la mitose, la membrane nucléaire disparaît ; c'est une différence avec ce qui a lieu chez les *Cystopus* puisque, chez ces derniers, la membrane nucléaire persiste jusqu'à la fin de la mitose.

Les chromosomes restent pêle-mêle dans la région équatoriale ; ils sont au nombre de 7 ou 8. Il est difficile de préciser leur mode de division, étant donnée leur petite taille.

Chez cette espèce, nous ne retrouvons pas le nucléole dans tous les stades de la mitose. A la prophase, il est très net, à la métaphase on trouve quelquefois un granule plus gros que les chromosomes, à côté du fuseau. Chez *P. parasitica*, Wager dit que le nucléole n'existe pas pendant la mitose, à

moins qu'il ne passe inaperçu parmi les autres granules chromatiques.

Les chromosomes, après leur division, se dirigent vers les deux pôles du fuseau avec des vitesses inégales. Les deux pôles perdent leur netteté ; quand les chromosomes arrivent au pôle, ils se fusionnent. On ne distingue plus alors les centrosomes. A ce stade, on voit encore quelques traces du fuseau joignant les deux groupes de chromosomes mêlés.

Après la disparition de ces traces de fuseau, les noyaux fils sont complètement formés. Nous ne pouvons pas affirmer que les centrosomes des Péronosporées persistent comme organes permanents dans les noyaux. Ces petits corps qui sont très nets à la métaphase ne peuvent être distingués des autres granules chromatiques, dans les noyaux fils.

Les noyaux de l'anthéridie se divisent simultanément avec ceux de l'oogone, et ceci est tellement vrai que si l'on connaît le stade de la division dans un de ces organes, on peut prédire que dans l'autre la division est au même stade. Il n'y a pas de différence entre les mitoses de l'oogone et celles de l'anthéridie.

D. *Maturation de l'oosphère et de l'anthéridie.*

Vers la fin de la mitose, le cytoplasme de l'oosphère subit de grands changements. Les grosses vacuoles du centre disparaissent et sont remplacées par de toutes petites vacuoles. L'ensemble de ces petites vacuoles présente l'aspect d'un réticulum. Tout autour de cette masse centrale, il y a une zone à vacuoles un peu plus grosses que celles du centre, et plus loin, à côté de la ligne de démarcation, il n'y a rien que de grosses vacuoles. Le périplasme change aussi d'aspect et l'on y voit apparaître des vacuoles plus ou moins grosses.

Dans les trabécules du périplasme, se trouvent des noyaux groupés en voie de dégénérescence (fig. 12, 13, planche XIV).

Au moment où cette vacuolisation a lieu, un globule central

homogène, mais irrégulier, fait son apparition. C'est le coenocentre ; il est entouré par une région remarquable de cytoplasme dense qui diffère du cytoplasme ordinaire en ce qu'il est plus coloré et qu'il contient beaucoup moins de vacuoles (fig. 9, planche XIII ; fig. 11, 12, planche XV). Chez *C. Bliti*, Stevens attribue l'origine de ce globule central à la fusion de plusieurs corps jaunes, mais il réserve son opinion sur ce point (Stevens, p. 161). Chez *P. parasitica*, Wager décrit son origine par condensation graduelle d'une masse de cytoplasme granuleux au centre de l'oosphère (Wager, p. 272). Pour *P. effusa*, nous partageons l'avis de Wager car le coenocentre a tout à fait l'aspect d'une masse de cytoplasme condensé et n'a aucun des caractères communs aux globules jaunes, ayant même une coloration différente. D'ailleurs ce n'est pas un organe permanent ; il apparaît au moment de la différenciation de l'oosphère, arrive à son maximum de développement lorsque le noyau sexuel entre dans l'oosphère et disparaît avant la fusion des deux noyaux sexuels ; parfois, cependant, des traces de son existence persistent jusqu'au moment de la fusion. D'après Wager, cet organe exerce dans *P. parasitica*, une attraction sur le noyau femelle et sur le tube fécondateur ; il contribuerait au rapprochement des deux noyaux sexuels, ce qui expliquerait, dans une certaine mesure, sa disparition après la fusion de ces derniers.

Nous partageons, pour *P. effusa*, l'avis de ce dernier auteur, mais nous pensons en outre que le coenocentre joue le rôle de réserve nutritive pour les deux noyaux qui s'agrandissent.

E. *Pénétration du tube fécondateur dans l'oosphère.*

Aussitôt que ce corps central apparaît, un des noyaux de la couche périplasmique rentre et vient en contact avec lui. Ce noyau est le pro-noyau femelle. Il est souvent fusiforme (fig. 12, planche XIV ; fig. 12, planche XV).

L'ooplasme au centre a une structure très fine, homogène ; il est composé de si petites mailles dont les vacuoles ne dépassent jamais la moitié de la grandeur du noyau ; il n'y a pas à ce moment de granules nets, ni de gouttelettes d'huile pouvant être mis en évidence par la triple coloration de Flemming. A la périphérie de l'ooplasme, il y a de grosses vacuoles de sorte que le périplasme est plus lâche ; ses trabécules sont souvent granuleux et ses noyaux sont fréquemment groupés aux intersections des trabécules (fig. 12, 13, planche XIV). La membrane qui sépare le périplasme de l'ooplasme commence à se former.

Le tube fécondateur pénètre dans l'oogone à l'endroit où la papille réceptive s'est formée. Tant qu'il reste dans le périplasme, il a toujours la forme d'un sac subglobuleux dont l'extrémité pointue touche la membrane de l'oosphère. Lorsqu'il pénètre dans l'oosphère, c'est par une portion tubulaire qu'il pousse à son extrémité (fig. 11, planche XIV ; fig. 3, planche XVI), de sorte que le tube fécondateur achevé, se présente sous une apparence très caractéristique ; il consiste en une portion tubulaire dans l'oosphère et une portion plus ou moins sphérique dans le périplasme. Il n'y a pas de noyau dans le tube au moment où il commence à se former, mais avant qu'il n'ait pénétré dans l'oosphère, un noyau de l'anthéridie y passe (fig. 11, planche XIV) ; comme il pénètre dans l'oosphère, un deuxième noyau pourrait passer également dans le tube. Au fur et à mesure que ce dernier s'allonge, le cytoplasme de l'anthéridie devient de plus en plus vacuolaire.

Immédiatement avant son passage dans le tube fécondateur, le noyau de l'anthéridie change de forme ; il devient un peu oblong et est souvent pointu à l'extrémité antérieure, ce qui lui permet de passer plus facilement par le pertuis étroit qui mène de l'anthéridie au tube fécondateur.

Quand l'extrémité du tube fécondateur arrive aux environs du coenocentre avec lequel le noyau femelle est toujours

en contact, elle se gonfle et devient presque globuleuse. A la suite de ce gonflement, la membrane de l'extrémité du tube devient très mince, à peine visible. Le tube s'ouvre et libère son contenu qui se mélange avec le cytoplasme de l'oosphère (fig. 3, planche XVI). Le noyau mâle, une fois sorti du tube fécondateur, vient en contact avec le coenocentre.

La membrane qui sépare l'ooplasme du périplasme est très peu modifiée par le passage du tube fécondateur. Le périplasme ne change guère d'aspect, ses noyaux sont en voie de dégénérescence, bien que leur membrane et leur nucléole soient encore visibles. Dans ces conditions, l'oosphère est mûre pour l'acte de fécondation. Le reste du tube fécondateur se résorbe dans le périplasme et sera ultérieurement inclus dans l'exospore, dont il n'a d'ailleurs jamais la nature, comme c'est le cas chez de nombreuses espèces de *Cystopus*.

F. *Fécondation.*

Le noyau mâle, sitôt après sa libération, est un peu plus petit que le noyau femelle (fig. 13, planche XIV) et se colore différemment par la triple coloration de Flemming, le noyau mâle en rouge et le noyau femelle en bleu. Cette différence de coloration entre les noyaux mâles et femelles ne se retrouve pas chez *C. candidus*, ni chez *C. Tragopogonis* ; cette différence de coloration est d'ailleurs éphémère ; les noyaux arrivent en contact, mais ne fusionnent pas tout de suite (fig. 15, 17, planche XIV) ; ils augmentent d'abord de volume, le noyau mâle grandissant plus vite que le noyau femelle ; les deux arrivent à être approximativement égaux. D'après Wager (*P. parasitica*) les deux noyaux s'écartent avant de se fusionner. Cette répulsion pourrait se produire aussi chez *P. effusa*, car nous avons vu parfois des préparations dans lesquelles les deux noyaux sexuels sont séparés l'un de l'autre (fig. 16, planche XIV). Comme ils sont deux ou trois fois plus grands qu'à l'origine, ils deviennent très

faciles à repérer dans l'oosphère ; leurs réseaux nucléaires sont très nets et les granules fortement colorables (fig. 16, 17, planche XIV). Quant aux nucléoles, ils ne sont pas très distincts dans le matériel fixé au liquide chromo-acétique et coloré par la triple coloration de Flemming, mais ils sont très nets dans le matériel fixé au liquide de Regaud et coloré à l'hématoxyline ferrique.

La membrane qui sépare l'ooplasme du périplasme, reste toujours distincte des autres membranes qui se forment ultérieurement. Stevens l'appelle « membrane primitive » ; elle est transparente, homogène, sans striation, très régulière en courbe et en épaisseur, entourée par le périplasme avec ses noyaux dégénérés. L'ooplasme a perdu son aspect finement vacuolaire. Les petites vacuoles du centre diminuent de nombre, mais augmentent de volume. Ces vacuoles marquent les régions où s'accumulent de grosses gouttelettes qui sont très visibles à l'état vivant. L'ooplasme se colore moins fortement mais, par contre, les deux noyaux qui sont maintenant très apparents dans l'ooplasme, se colorent plus fortement qu'auparavant (fig. 15, 16, 17, planche XIV).

La fusion des deux noyaux sexuels commence alors. Petit à petit, ces derniers se rapprochent à nouveau l'un de l'autre et arrivent intimement en contact. La membrane disparaît au point de contact et les contenus des deux noyaux se fusionnent (fig. 14, planche XIV ; fig. 9, 13, planche XV). Les nucléoles restent distincts jusqu'à ce que la fusion des deux noyaux soit presque achevée, puis ils se fusionnent à leur tour pour former un seul nucléole qui est fortement colorable. Rarement les nucléoles se fusionnent presque en même temps que le reste des noyaux. Dans ce cas, les deux nucléoles restent exactement au point de jonction des deux noyaux (fig. 8, planche XV). La fusion a lieu définitivement à l'état de repos des noyaux ; il n'y a aucune indication de fusion des chromosomes comme Berlèse l'a figuré dans ses études sur cette espèce et sur *P. Alsinearum.* Nous avons

trouvé un cas où les deux noyaux en fusion montraient de nombreux granules chromatiques qui n'étaient vraisemblablement pas des chromosomes (fig. 14, planche XIV).

Contrairement à ce que dit Berlèse, la fusion chez *P. effusa* est d'une extrême lenteur, elle n'est pas encore achevée au moment où l'exospore de l'œuf est presque formée.

On sait d'ailleurs que dans la famille des Péronosporées, il y a deux types de fusion : dans le premier type, la fusion a lieu très vite, presque aussitôt après l'entrée du noyau mâle dans l'oosphère, c'est le cas de *C. Bliti* (Stevens), *Cystopus candidus* (Wager), *Cystopus Portulacae* et *C. Tragopogonis* (Stevens). Dans le 2e type, la fusion est d'une extrême lenteur, comme chez *P. parasitica* (Wager) et *P. effusa*.

On sait que la fusion retardée des noyaux que nous avons décrite tout à l'heure, n'est pas très rare chez les Thallophytes ; on peut l'observer dans les zygotes de *Spirogyra*, *Cosmarium*, *Closterium*, *Basidiobolus* et *Polyphagus*.

G. *Maturation de l'oospore.*

Au moment où la fusion a lieu, le cytoplasme de l'oospore contient une grande quantité de globules. Il est très difficile de déterminer leur nature. Dans ces globules, on distingue quelquefois de petits cristaux réfringents, surtout nets quand le matériel a été fixé dans le liquide de Regaud et coloré à l'hématoxyline (fig. 15, 17, 18, planche XIV) ; ils se fusionnent petit à petit pour former un globule central (fig. 9, 10, planche XV). Beaucoup d'auteurs, notamment Wager, qui a étudié *P. parasitica*, ont pris ces globules pour de l'huile. Mais nous ne pouvons pas nous rallier à leur avis pour deux raisons : premièrement, ces globules ne répondent pas tous aux réactifs des huiles, et deuxièmement, ils se précipitent généralement dans les vacuoles. Déjà Stevens, en étudiant *C. Bliti* avait émis des doutes sur la nature oléagineuse de ces globules.

Dans l'oospore, entre le globule central et la membrane, il y a un espace rempli de cytoplasme finement granuleux. Dans le cytoplasme, se trouve une tache arrondie ou allongée, parfaitement hyaline, qui avait déjà été indiquée par De Bary, qui pensait qu'il s'agissait d'un noyau, ce qui est exact. Ce noyau est visible, même à l'état vivant. En dehors de ce gros noyau, nous n'avons pas pu en trouver d'autres dans l'oospore mûre ; donc chez *P. effusa*, l'oospore est bien uninucléée (fig. 10, 13, planche XV). On sait que chez les *Cystopus*, l'oospore est plurinucléée, tandis que chez la plupart des *Peronospora*, l'oospore est uninucléée, c'est notamment le cas des *P. parasitica* (Wager), P. *effusa* et *P. calotheca*. Nous ne savons pas si lors de la germination, ce noyau unique se divisera plusieurs fois pour donner des zoospores ou bien s'il passera directement dans le tube germinatif. La figure 19, planche XIV, tend à faire croire que l'œuf en germant donne des zoospores, puisque le noyau unique semble commencer à se diviser, mais, nous ne pouvons rien affirmer sur ce point.

La formation des membranes chez *P. effusa*, est relativement très simple. Tout d'abord, on voit le périplasme, avec ses noyaux dégénérés se transformer en masses irrégulières de différentes grandeurs qui remplissent presque toute la couche périplasmique (fig. 7, planche XV). Ces masses sont très épaisses, homogènes, et se colorent en rouge foncé par la triple coloration de Flemming, tandis que l'endospore se colore en bleu par la même méthode. Cette dernière membrane est homogène, sans striation, régulière en courbe et en épaisseur. Entre l'exospore et l'endospore la membrane primitive semble persister encore et séparer les deux premières, d'où nous concluons que l'endospore se forme aux dépens de l'ooplasme, tandis que l'exospore provient du périplasme. On rencontre quelquefois des oosphères dans lesquelles s'accumulent des masses irrégulières colorables en bleu qui contribuent à la formation de l'endospore. La formation de l'endospore semble précéder quelque peu celle de l'exospore.

H. *Cytome et Vacuome.*

L'oogone de *Peronospora* est comparativement plus petit que celui de *Cystopus* ; malgré sa petite dimension, on y trouve beaucoup de cytosomes sphériques, dans le matériel fixé au liquide de Regaud et coloré à l'hématoxyline. Ces petits corps sphériques se trouvent surtout dans les trabécules du cytoplasme ; ils forment quelquefois des cercles autour des noyaux (fig. 1, 2, planche XVI). Les cytosomes de *Peronospora* paraissent plus petits que ceux du *Cystopus*, mais ils sont très nombreux car dans une seule coupe on peut en compter des centaines.

Dans l'anthéridie, malgré la dimension beaucoup plus petite de cet organe, les cytosomes sphériques ne font pas défaut, mais ils sont naturellement beaucoup moins nombreux que dans l'oogone, mais semblables en tous points. Ils se trouvent aussi, comme ceux de l'oogone, le long des trabécules du cytoplasme (fig. 1, 2, planche XVI).

Nous croyons que tous les cytosomes sphériques de l'oogone et de l'anthéridie, proviennent du mycélium. Quand le mycélium s'élargit pour donner les deux gamétanges, les cytosomes pénètrent en grande quantité dans le jeune oogone et la jeune anthéridie nouvellement formés, en même temps que le cytoplasme et les noyaux.

Lors de la différenciation de l'oosphère, on observe un partage des cytosomes de l'oogone entre le périplasme et l'ooplasme : dans le périplasme, la structure reste largement réticulaire et les cytosomes, faciles à mettre en évidence, restent très longtemps apparents ; dans la jeune oosphère, au contraire, le cytoplasme s'organise en un très fin réticulum : les cytosomes sont plus petits que dans le périplasme et ont parfois l'aspect de bâtonnets, ce qui pourrait laisser supposer l'existence d'une division à ce stade. Les cytosomes de l'oosphère sont beaucoup moins nombreux que ceux de

l'oogone, peut-être à cause de ce partage (fig. 4, 6, planche XVI). Au contraire, dans le périplasme, ils sont nombreux et quelquefois rassemblés comme le sont les noyaux dégénérés (fig. 4, planche XVI).

Malgré l'étroitesse du tube fécondateur de *P. effusa*, nous croyons que son cytoplasme comporte en dehors d'un noyau à l'extrémité, et peut-être d'un autre à la base, des cytosomes. De sorte que lorsque le tube libère son contenu dans l'oosphère, ce contenu apporte des cytosomes de l'anthéridie (fig. 3, planche XVI).

Il en résulte que l'œuf qui donnera naissance à de nouvelles générations, contient à côté de très nombreux cytosomes, d'origine femelle, un certain nombre de cytosomes d'origine mâle. A part ce fait capital, les cytosomes dans l'oosphère et dans le périplasme ne subissent pas beaucoup de modifications. Lorsque l'oospore se forme, les globules ou les endochromidies sont très nombreux et occupent presque tout le centre de l'oosphère. Ces globules se trouvent tantôt dans les vacuoles et tantôt dans le cytoplasme et dans ce cas diffèrent des premiers par leur nature ; ils masquent presque tous les cytosomes, et gênent beaucoup leur observation ; mais lorsque ces globules se rassemblent pour former le globule central, nous retrouvons de nombreux cytosomes dans la couche pariétale de cytoplasme de l'oosphère. Ces cytosomes sont moins chromophiles qu'auparavant et paraissent de ce fait, un peu moins nets, mais il est certain qu'ils existent, bien que leur nombre soit un peu diminué. Quant aux cytosomes du périplasme, nous croyons qu'ils ont subi le même sort que les noyaux dégénérés, c'est-à-dire qu'ils ont peut-être contribué à la formation de l'exospore. Nous avons décrit le système vacuolaire de cette espèce dans les chapitres précédents, et n'y reviendrons pas.

II. — Reproduction asexuelle.

Le mycélium est assez large chez *Peronospora effusa* ; sa membrane est assez mince et son cytoplasme réticulé. Dans le matériel fixé au liquide de Regaud, le cytoplasme est plein de cytosomes sphériques ou allongés ; les noyaux prennent mal l'hématoxyline. Au contraire, dans le matériel fixé au liquide chromo-acétique, les noyaux sont très nets et pourvus d'une membrane nucléaire, d'un nucléole et de granules chromatiques. Les cytosomes observés après fixation au liquide de Regaud, sont volumineux et très chromatiques, mais parfois ils perdent leur chromatine de sorte qu'il ne subsiste que des sphères achromophiles. Les stades allongés du cytome représentent des aspects de division ou des étirements.

Les suçoirs représentent des ramifications dont la structure cytologique doit être normale, bien que nos colorations n'aient pas mis en évidence les noyaux. La membrane de ces suçoirs est assez épaisse.

Les conidies, d'une coloration naturelle violet sale, sont elliptiques, pédicellées, portées par des rameaux fasciculés, courts, épais, dichotomisés deux à sept fois ; les dernières ramifications sont épaisses, brièvement subulées, arquées. Le cytoplasme des conidies renferme des cytosomes sphériques avec quelques noyaux distribués çà et là (matériel fixé au liquide de Regaud).

Chez *P. effusa*, nous avons coloré vitalement par le rouge neutre les conidies. Nous avons réussi cette coloration en mettant le matériel frais dans le rouge neutre dilué pendant un temps minimum variant entre 2 et 3 heures. Les vacuoles se colorent en rouge vif dans les conidies, ainsi que dans les filaments ; elles sont généralement arrondies, mais de dimensions variables.

Nous avons coloré aussi vitalement les espèces suivantes :

Plasmopara nivea, Peronospora Ficariae, Peronospora calothéca. Les vacuoles que l'on rencontre dans les conidies de ces dernières espèces sont toutes arrondies et d'une coloration rouge vif. Chez *Peronospora Ficariae* sur *Ranunculus acris*, nous avons assisté à la germination d'une conidie et au passage d'une vacuole dans le tube germinatif. Ce fait rappelle la transmission des vacuoles qui se produit d'après Pierre Dangeard [12] lors du bourgeonnement des levures.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Dans ce travail, nous avons vérifié d'une part des faits déjà signalés, d'autre part, nous apportons une contribution originale.

Nous pouvons diviser les espèces que nous avons étudiées en 3 catégories :

Première catégorie. — *Cystopus Bliti* et *C. Portulacae* : Ces deux espèces ont une anthéridie et un oogone plurinucléés. Dans les deux organes, les noyaux se divisent deux fois : *a*) avant la différenciation de l'oosphère ; *b*) après la différenciation. La différenciation de l'oosphère se produit par condensation de masses cytoplasmiques qui se réunissent ensuite pour donner l'oosphère primitive. Dans les 2 mitoses, on trouve presque le même chiffre de chromosomes, c'est-à-dire 12 environ, et les deux centrosomes sont constants : enfin, les fuseaux sont toujours intranucléaires. Dans la deuxième mitose, les fuseaux sont beaucoup plus allongés qu'au cours de la première mitose et le matériel chromatique est moins abondant, c'est ce qui a fait penser quelquefois à une réduction. Le coenocentre dont la fonction est assez mal définie est assez petit chez ces deux espèces. Dans l'oosphère plurinucléée le tube fécondateur venant de l'anthéridie transporte une centaine de noyaux mâles qui copulent avec un nombre égal de noyaux femelles. Après la fusion de ces noyaux mâles et femelles, les corpuscules de l'oosphère se fusionnent pour donner un globule central à substratum mal défini. Dès le début de la formation de l'anthéridie et de l'oogone, on trouve des cytosomes sphériques ou en bâtonnets ; ces derniers représentant soit une déformation et un

étirement, soit un stade de division. Les cytosomes dans l'oosphère qui vient de se différencier, sont comparativement plus petits que dans les stades précédents, et les mailles du réseau cytoplasmique elles-mêmes sont plus ténues. Les précipitations métachromatiques ne manquent pas dans l'oogone ni dans l'anthéridie, elles sont très nombreuses, surtout dans le périplasme. L'oospore comprend en définitive une masse centrale faisant partie du vacuome et se colorant au rouge neutre ; elle est entourée d'une couche cytoplasmique renfermant de nombreux cytosomes sphériques et de nombreux noyaux de fusion à l'état quièscent ; et une membrane formée d'une endospore à deux couches et d'une exospore ornée.

Deuxième catégorie. — *Cystopus candidus* et *Cystopus Tragopogonis* : ces deux espèces ont un caractère commun, c'est que la fécondation se fait par fusion unique d'un seul noyau mâle et d'un seul noyau femelle. Ensuite, ce noyau de fusion se divise plusieurs fois pour donner une trentaine de noyaux dans l'oospore. Le coenocentre, assez volumineux, se compose de plusieurs couches concentriques, tout au moins au début ; il attire nettement les noyaux sexuels. La différenciation de l'oosphère dans cette 2e catégorie se fait d'une autre façon que dans la 1re catégorie ; il n'y a pas de condensation préalable de masses élémentaires mais simplement une condensation globale vers le centre. La première mitose dans l'oogone et dans l'anthéridie et la deuxième mitose dans l'oosphère et dans l'anthéridie chez ces deux espèces ne diffèrent guère de ce que nous avons précédemment décrit pour la 1re catégorie ; le nombre des chromosomes est d'une douzaine environ. Mais la division du noyau de fusion est un peu différente ; le fuseau vraisemblablement intranucléaire, est énorme ; les chromosomes à la plaque équatoriale en dédoublement sont très nombreux, 24 environ ; les centrosomes sont très nets. Après la première mitose qui ramène à 12 le nombre normal des chromosomes, les deux

noyaux fils se divisent plusieurs fois ; au fur et à mesure que les divisions se continuent, le fuseau devient de plus en plus petit ; les noyaux de l'oospore mûre ont repris leur taille ordinaire et la structure qu'on retrouvera dans le mycélium. On retrouve dans presque tous les stades de développement des deux organes sexuels des cytosomes sphériques ou en bâtonnets et les précipitations métachromatiques. L'endospore est formée d'une seule couche, mais entre celle-ci et l'exospore se trouve une couche striée à canalicules. L'endospore est de nature cellulosique et l'exospore est de nature mixte callosique et cellulosique. Chez *Cystopus Tragopogonis*, nous avons trouvé des œufs en germination dans la nature. On assiste à la disparition du globule central, puis au clivage du cytoplasme ; chaque portion contient un noyau avec une couronne de cytosomes sphériques, exactement comme dans la conidie.

Troisième catégorie. — *Peronospora effusa* : Comme dans la 2e catégorie, une seule paire de noyaux copulent, mais la seule différence est que le noyau de fusion ne se divise pas plusieurs fois pour donner de nombreux noyaux dans l'oospore, de sorte que dans l'œuf, il n'y a qu'un seul noyau ; une autre différence entre ces deux catégories, c'est que la fusion des deux noyaux sexuels chez *Peronospora effusa* se fait lentement. Ainsi, on voit souvent les deux noyaux sexuels rester seulement en contact, les membranes de l'œuf étant déjà formées. Le fuseau de la première mitose chez cette espèce n'est pas très net, et paraît se trouver dans le nucléoplasme. Le nombre de chromosomes varie entre 6 et 8, et les deux centrosomes sont assez nets. La deuxième mitose est assez difficile à rencontrer; elle ne diffère pas beaucoup de la première. Le coenocentre chez cette espèce est assez volumineux et homogène, et attire également les noyaux sexuels, comme dans la 2e catégorie. La couche à canalicules n'existe pas chez les *Peronospora*; l'endospore consiste en une seule couche et l'exospore montre des ornements.

Les cytosomes sphériques ou en bâtonnets existent dans tous les stades, ainsi que les précipitations métachromatiques, surtout dans le périplasme. Dans l'oospore, le globule central a un substratum mal défini ; il occupe une place assez grande.

Pendant longtemps, on n'a guère envisagé dans les phénomènes de fécondation que la fusion des cytoplasmes et des noyaux lors de l'union des gamètes mâles et femelles ; les propriétés héréditaires que transmet l'œuf à la nouvelle génération seraient dues exclusivement ou presque aux noyaux sexuels.

La connaissance plus approfondie que l'on a prise dans ces dernières années des formations existant dans le cytoplasme, comme le *vacuome* et le *cytome* ont eu pour résultat d'attirer l'attention sur la transmission possible de ces formations à l'œuf par l'intermédiaire des gamètes.

Si nous considérons en nous aidant de l'excellent Traité de Sharp [29] la fécondation chez les animaux, nou sconstatons que l'on tend peu à peu à se mettre d'accord sur le fait que l'anthérozoïde renferme, à côté de son noyau des éléments qui correspondent au *vacuome* et au *chondriome*, cette dernière formation étant, comme on le sait, pour une part identique au cytome de la cellule végétale ; pour le *vacuome*, ce seraient les dictyosomes qui se fusionneraient en un appareil de Golgi qui finirait par donner un unique et large *acroblast* ; celui-ci à son tour fournirait, en se différenciant, l'*acrosome* de l'anthérozoïde ; or pour plusieurs histologistes, cet *acrosome* représenterait le vacuome dans l'anthérozoïde.

La présence du *chondriome* dans l'anthérozoïde serait représentée par le *nebenkern* (au sens de Bowen [3]) résultant de la fusion des chondriosomes ou cytosomes de la cellule végétale.

On s'achemine donc tout doucement à l'idée que dans la fécondation, les formations cytoplasmiques, *vacuome* et *cytome* sont, comme les noyaux transmises à l'œuf, par les deux gamètes.

Chez les végétaux qui possèdent des spermatozoïdes, on n'a guère réussi jusqu'ici à établir la transmission du *vacuome* et du *cytome* à l'œuf que par l'intermédidare de l'oosphère; on n'est pas arrivé jusqu'ici à fixer la place exacte dans l'anthérozoïde mûr, non seulement du *vacuome* et des *cytosomes*, mais aussi des *plastes* ; on en est réduit à se demander si ces formations seraient transmises à la nouvelle génération provenant de l'œuf uniquement par l'oosphère.

Cette incertitude, à la suite des résultats obtenus dans ce mémoire, n'existe plus, en ce qui concerne la reproduction des Péronosporées ; de nombreux cytosomes mâles sont fournis par l'anthéridie à l'oosphère ; que l'œuf soit simple ou composé, il renferme toujours à côté des nombreux cytosomes femelles, une notable quantité de cytosomes mâles.

Nous considérons ce résultat comme très important ; on retrouvera à n'en pas douter ce même mode de transmission des cytosomes pendant la fécondation dans tous les principaux groupes de Siphomycètes.

L'étude du *vacuome*, à cause des difficultés qu'elle présente, ne nous a pas permis d'arriver à des résultats aussi nets, en ce qui concerne la transmission de cette formation à l'œuf, par l'intermédiaire de l'anthéridie ; nous considérons cependant que la preuve que nous avons donnée de la nature et de l'origine du gros corpuscule central des oospores est de nature à faciliter grandement la solution du problème.

La question de la réduction chromatique se présentait d'une façon extrêmement délicate ; la petitesse des noyaux empêche de pouvoir dénombrer les chromosomes d'une façon sûre ; tandis que la plupart des auteurs parlent de 12 à 16 chromosomes, Ruhland [28] n'estime qu'à 4 ou 5 ceux du *Cystopus Lepigoni* ; malgré nos efforts, il nous a été impossible de fixer un chiffre autrement qu'approché.

Ce qui nous semble certain, c'est que le nombre des chromosomes dans les mitoses de l'oogone oscille entre 10 ou 12,

sans jamais dépasser ce chiffre ; parfois même, il paraît moins élevé.

On peut cependant admettre d'après nos observations sur la première division du noyau de fécondation dans l'oospore que la réduction se fait à ce stade ; certains aspects de la plaque équatoriale donnent l'impression d'une vingtaine de chromosomes, mais il s'agit ou de chromosomes bivalents ou d'une division, car au stade tonnelet, on ne compte plus qu'une douzaine de ces chromosomes, nombre que l'on retrouvera dans les mitoses suivantes.

Notre conclusion est que la réduction chromatique se produit chez les Péronosporées dès la première mitose du noyau de fécondation ; tout le développement se fait sous l'état haploïde ; l'oospore seule est à l'état diploïde ; on sait par ailleurs que beaucoup de Champignons sont dans ce cas.

On ne manquera pas aussi d'être frappé de l'augmentation considérable du noyau de l'oospore, après la fécondation et de la structure dense qu'il arrive à présenter, alors qu'au cours des divisions qui suivent, il reprend progressivement la dimension et la structure vésiculaire qu'il possède dans le mycélium.

BIBLIOGRAPHIE

1. De Bary. — Morphologie und Biologie der Pilze, 1884.
2. Berlèse. — Ueber die befruchtung und entwick. der Oosphäre bei den Peronosporen (*Jahrb. f. w. Bot.*, vol. XXXI, 1898).
3. Bowen. — Résumé sur la spermatogénèse des Insectes (*Journ. Morph.*, vol. XXIX, 1924).
4. Busgen. — Die entw. der Phycomycetensporangien (*Pringsheims Jahrb.*, vol. XIII, 1882).
5. Dangeard (P.-A.). — Recherches histologiques sur les Champignons (*Le Botaniste*, série II, 1890).
6. — La métachromatine chez les Algues et les Champignons (*Bull. Soc. bot. de France*, t. 63, 1916).
7. — Sur la distinction du chondriome des auteurs en vacuome, plastidome et sphérome (C. R. Acad. sc., vol. 169, p. 1005, 1919).
8. — La structure des Vauchéries dans ses rapports avec la terminologie nouvelle des éléments cellulaires (*La Cellule*, vol. XXXV, manuscrit déposé 22 juillet 1924).
9. — Recherches sur les tubercules radicaux des Légumineuses (*Le Botaniste*, série XVI, 1926).
10. Dangeard (P.-A.) et Kin Chou Tsang. — Recherches sur les formations cellulaires contenues dans le cytoplasme des Péronosporées (C. R. Acad. sc., vol. 182, 1926, p. 1256 et *Le Botaniste*, série XVII, p. 365, 1926).
11. Dangeard (Pierre). — Recherches de biologie cellulaire : Evolution du système vacuolaire chez les végétaux (*Le Botaniste*, série XV, 1923, avec Bibliographie).
12. — Sur l'origine des vacuoles (*Le Botaniste*, série XVIII, 1927).
13. Davis. — The fertilisation of *Albugo candida* (*Bot. Gazette*, vol. XXIX, 1900).
14. Fisch. — Ueber das verhalten der zellkerne in fusionirenden Pilzen (*V. deutsch. Naturf.* und Aerzte in Strassburg, 1885).
15. Guillermond. — Sur le rôle du chondriome dans l'élaboration des produits de réserve des Champignons (C. R. Ac. Sc., vol. 157, 1913, p. 63).
16. — Titres et travaux scientifiques. Lyon, 1921, avec indications bibliographiques sur ses nombreux travaux.
17. Istvanffi. — Ueber die Rolle der zellkerns bei der Entwickelung der Pilze (*Ber. d. d. bot. Gesells.*, vol. XIII, 1895).
18. Lewitsky (G.).— Ueber die Chondrios. in pfl. Zellen (*Bericht. d. deutsch. Bot. Gesell.*, vol. 28, 1910).
19. — Die Chondriosomen als secret bildner (*Id.*, vol. 31, 1913).

— Ueber die Chondriosomen bei d. Myxomyceten (*Zeitschr. f. Botanik.*, 16e année, 1924).

20. MAGNUS. — Ueber die Membr. d. oosp. v. *Cystopus Tragopogonis* (*Ber. d. deuts. Gesellschaft*, t. XI).
21. MANGIN. — Sur la désarticulation des conidies chez les Péronosporées (*Bull. Soc. bot. de France*, vol. XXXVIII, 1891).
22. — Recherches anatomiques sur les Péronosporées (*Bull. Soc. d'Histoire naturelle d'Autun*, vol. 8, 1985).
23. MOREAU (Mme F.). — Les phénomènes de la sexualité chez les Urédinées (*Le Botaniste*, série XIII, 1914).
24. MIYAKE. — The fertilisation of Pythium de Baryanum (*Ann. of Botany*, vol. XV, 1901).
25. PARAT. — Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme de la cellule animale. Thèse Paris, 1928.
26. ROSENBERG. — Ueber die Befrucht. von *Plasmopara alpina* (Bih. Till. K. Swenska Vet. Akad. Handl., vol. 28, 1903).
27. RUHLAND. — Die Befruchtung der *Albugo Lepigoni* und einige Peronosporen (Hedwigia, vol. 41, 1902, communication préliminaire).
28. — Studien über die Befruchtung der *Albugo Lepigoni* und einige Peronosporen (*Jahr. f. wiss. Botanik.*, vol. XXXIX, 1904).
29. SHARP. — Introduction to Cytology, seconde édition, 1926.
30. STEVENS. — The compound oosphère of *Albugo Bliti* (*Bot. Gazette*, vol. XXVIII, 1899).
31. — Gametogenesis and fertilisation in *Albugo* (*Bot. Gazette*, v. XXXII, 1901).
32. Studies in the fertilisation of Phycomycetes (*Bot. Gazette*, v. XXXIV, 1902).
33. WAGER. — On the nuclei of *Peronospora parasitica* (*Annals of Botany*, vol. IV, 1889).
34. — Observations on the structure of *Cystopus candidus* (*Brit. Ass. Reports*, 1892).
35. — On the structure and reproduction of *Cystopus candidus* (*Ann. of Botany*, vol. X, 1896).
36. — The sexuality of Fungi (*Ann. of Botany*, vol. XIII, 1899).
37. — On the fertilisation of *Peronospora parasitica* (*Annals of Botany* vol. XIV, 1900).
38. ZALEWSKI. — Ueber Sporenabschnurung und Spor. bei den Pilzen (Flora, XII, 1883).
39. — Zur Kenntniss der gattung *Cystopus* (*Bot. Centr.*, vol. 15, 1883).

PLANCHES HORS TEXTES

PLANCHE I

Cystopus candidus — Fix : Chromo-acétique.

1. Cytoplasme à mailles larges.
2. Les mailles du cytoplasme sont plus fines.

3 et 3 *bis*. Stade de prophase, réseaux et granules chromatiques sont visibles à l'intérieur des noyaux.

4. La papille commence à se former.
5. La papille montre deux zones différentes.
6. Quatre noyaux sont attirés par le coenocentre.
7. Stade suivant la 2e mitose — l'ooplasme est creusé de grosses vacuoles remplies de précipitations chromatiques abondantes; il renferme plusieurs noyaux ; l'un de ces derniers est au contact du coenocentre. Le coenocentre montre 2 zones concentriques différenciées.
8. Noyau enveloppé par les restes du coenocentre.
9. Noyau de fusion à la métaphase, 4 amas chromosomiques sont visibles.
10. Portion d'oospore montrant 2 noyaux, l'un en prophase, l'autre en métaphase.

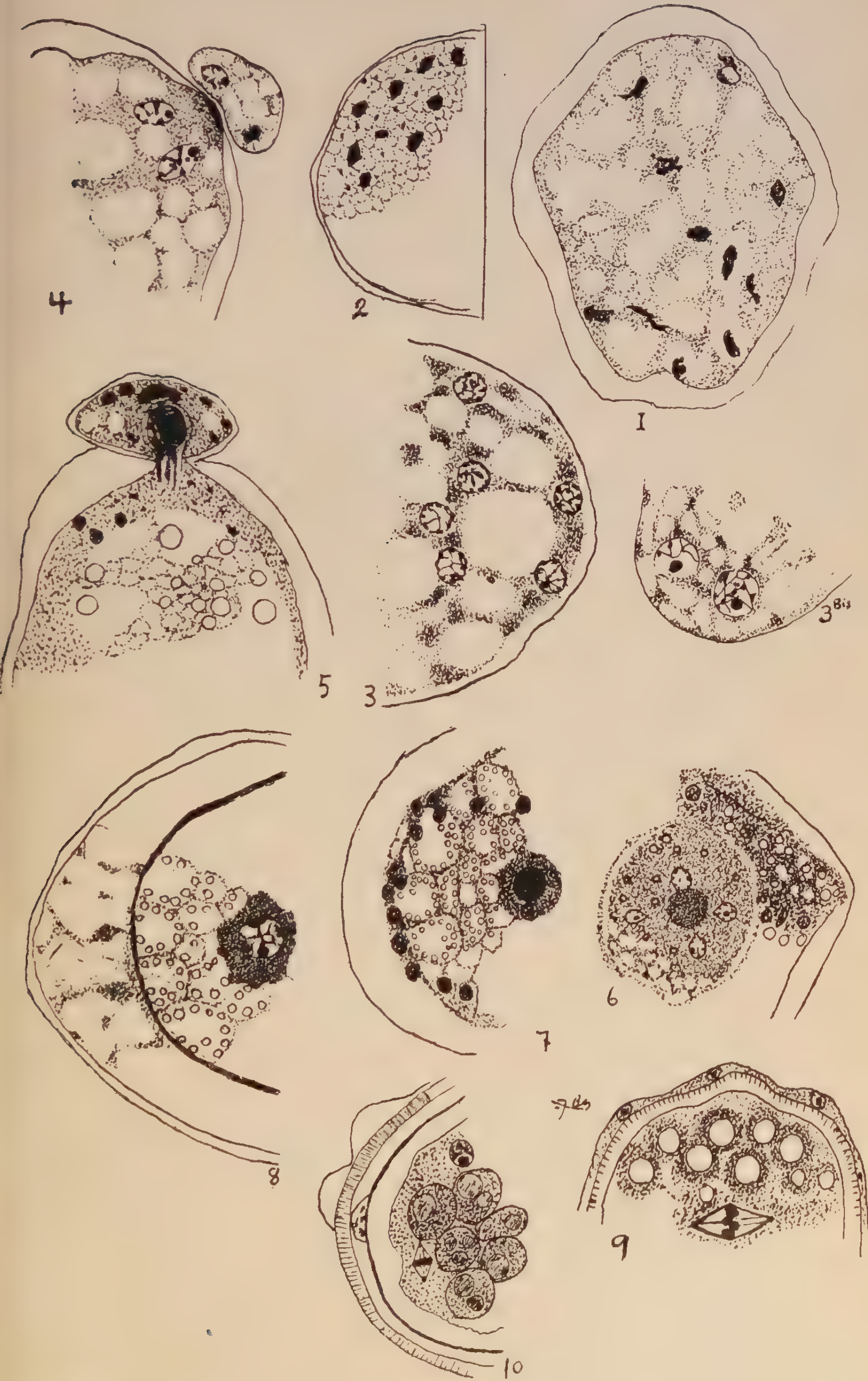

4
2
1
5
3
3 Bis
8
7
6
9
9 bis
10

PLANCHE II

Cystopus candidus — Fix : Chromo-acétique.

1. Divers stades de mitose.
2. Dans le périplasme qui est creusé de volumineuses vacuoles se trouvent des noyaux à nucléole et réseau chromatique bien visible. L'ooplasme dont les vacuoles sont beaucoup plus petites montre un noyau contigu aux restes du coenocentre.
3. Deux noyaux en fusion.
4. Un noyau reste à côté du coenocentre qui a presque disparu.
5. Quatre noyaux en prophase dans l'œuf.
6. Le tube fécondateur se retire dans le périplasme.

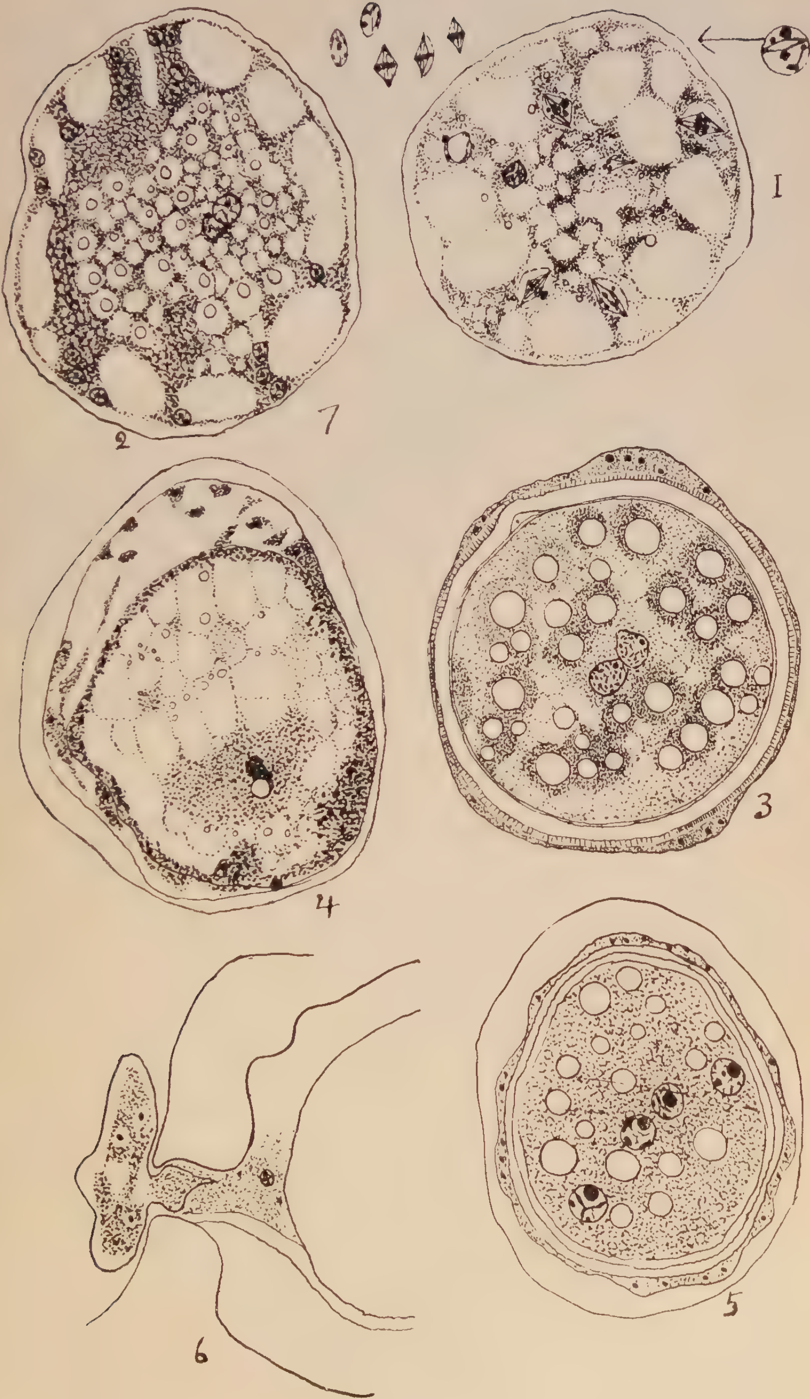

1
2
7
3
4
5
6

PLANCHE III.

Cystopus candidus — Fix : Chromo-acétique.

1. Le périplasme est très réduit, dans l'ooplasme vacuolaire; on voit divers stades de la 2e mitose montrant à la métaphase des centrosomes assez nets.
2. L'oosphère commence à se former — divers stades de la 1re mitose notamment des fuseaux en métaphase intranucléaires.
3. Stade voisin de la 2e mitose : Toutefois on ne voit guère qu'un seul fuseau au sommet de la figure — les autres noyaux souvent allongés montrent encore leur nucléole, — deux d'entre eux fusiformes sont accolés contre le coenocentre.
4. L'endospore commence à se former.
5. L'oosplasme se contracte et laisse un vide périphérique dans lequel se formera l'endospore — au centre, prophase de la première division du noyau de fusion.
6. Quelques phases de la première mitose : prophase, métaphase, anaphase.
7. La coque est formée — on voit encore les traces du tube fécondateur ; à l'intérieur, on voit un noyau en anaphase et deux noyaux résultant d'une division récente qui commencent à s'entourer d'une membrane.
8. On remarquera le noyau en métaphase montrant des chromosomes nombreux.
9. Anaphase du même noyau.

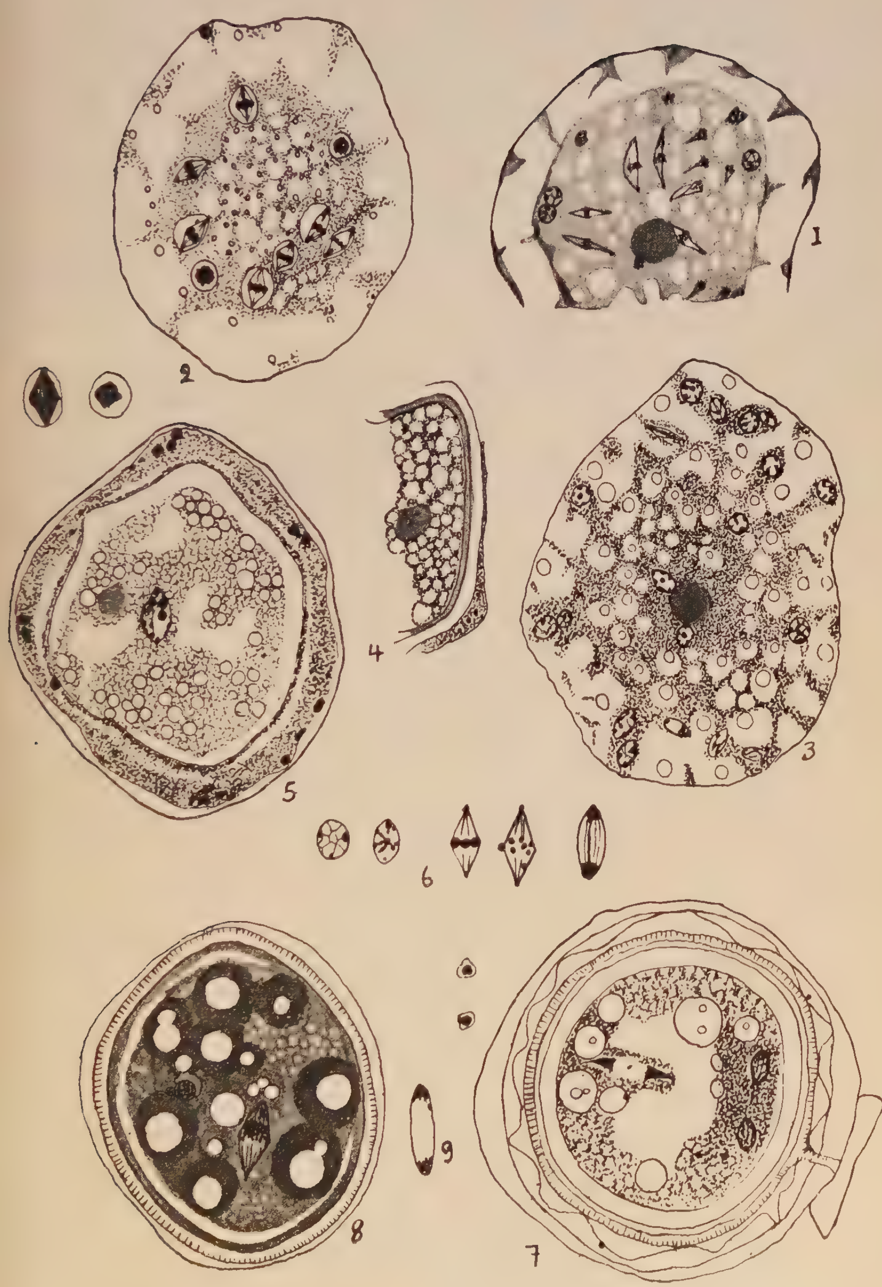

1
2
3
4
5
6
7
8
9

PLANCHE IV

Cystopus candidus — Fix : Regaud.

1. Cytosomes sphériques très nets, mais noyaux peu colorés.
2. Il se produit une sorte de cavité au centre, — commencement de la formation de l'oosphère, le cytoplasme est un peu repoussé vers la périphérie.
3. La papille pénètre dans l'anthéridie en entraînant des cytosomes.
4. Stade de différenciation — on voit des cytosomes sphériques à côté d'autres en bâtonnets. Le coenocentre est formé d'un noyau entouré d'une écorce à petites mailles.
5. Le tube fécondateur pénètre dans l'oosphère.
6. Un noyau fusiforme passe dans le tube fécondateur. Ce dernier est nettement étranglé.
7. Stade de différenciation de l'oosphère.
8. Le tube fécondateur très large libère un noyau.
9. Le cytoplasme renferme toujours d'abondants cytosomes sphériques et 2 noyaux rapprochés du coenocentre.

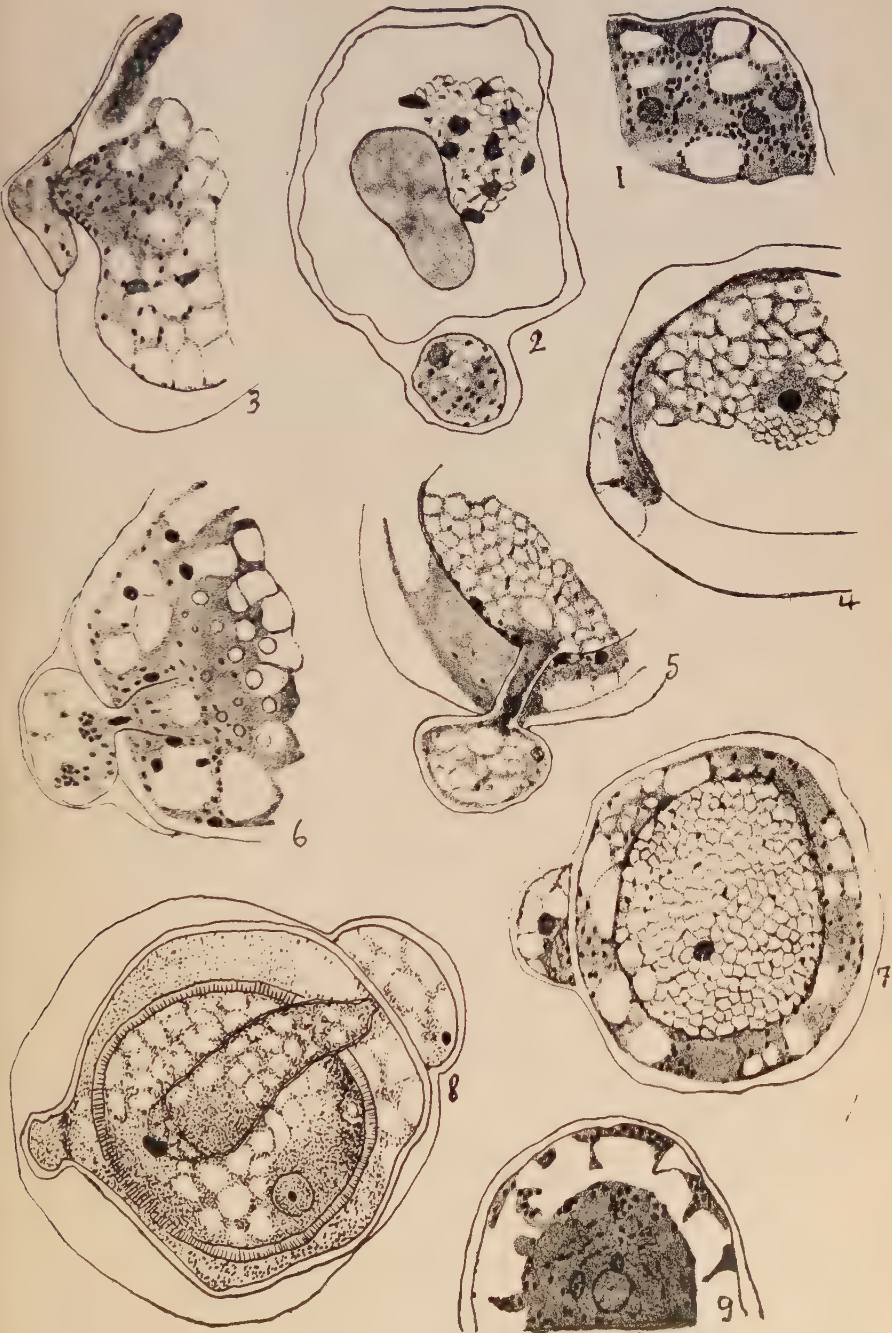
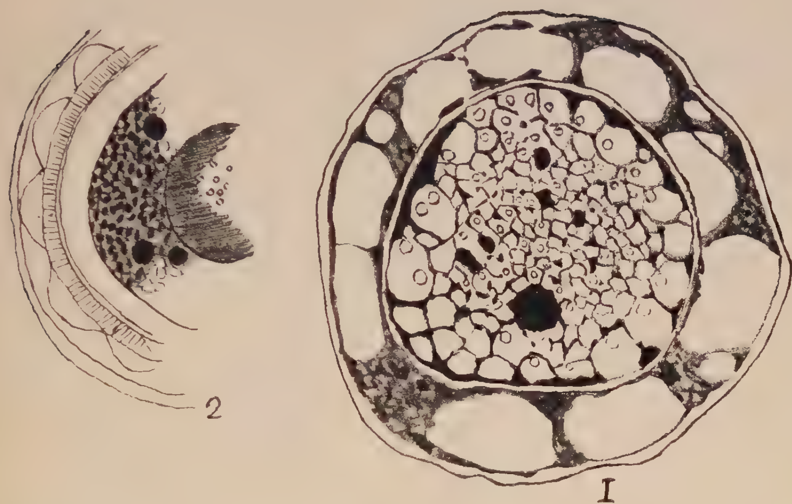
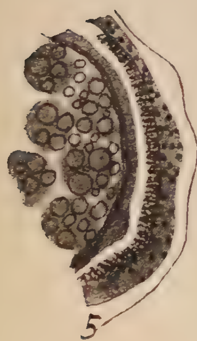

1
2
3
4
5
6
7
8
9

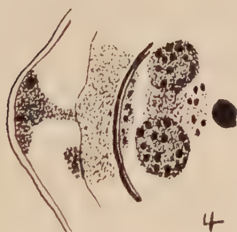
PLANCHE V

Cystopus Candidus — Fix : Regaud.

1. Stade succédant à la 1re division — remarquer le grand développement du coenocentre et l'abondance des précipitations chromatiques dans les vacuoles.
2. L'œuf est presque formé ; on y voit trois noyaux et de nombreux cytosomes.
3. Fragment d'œuf montrant l'existence de 4 membranes.
4. Fragment d'oospore. La membrane primitive est très nette — le périplasme (à gauche) est dépourvu de corpuscules. Dans l'oosplame, on voit deux masses remplies de corpuscules colorés (ces masses contribuaient à la formation de l'endospore).
5. Fragment d'oospore à un âge, plus avancé — la membrane à canalicules est formée — l'ooplasme renferme de nombreux corps jaunes (endochromidies).
6. Fragment de la coque montrant, malgré l'âge déjà avancé (les ornements commencent à se former) une petite enclave de cytoplasme avec trois noyaux très nets, à l'extérieur de la couche à canalicules.
7. Oospore montrant un coenocentre encore très développé.
8. Les 4 couches de la coque, de gauche à droite : endospore, couche primitive. couche à canalicules, couche à ornements.


2
I


5


4


3


8

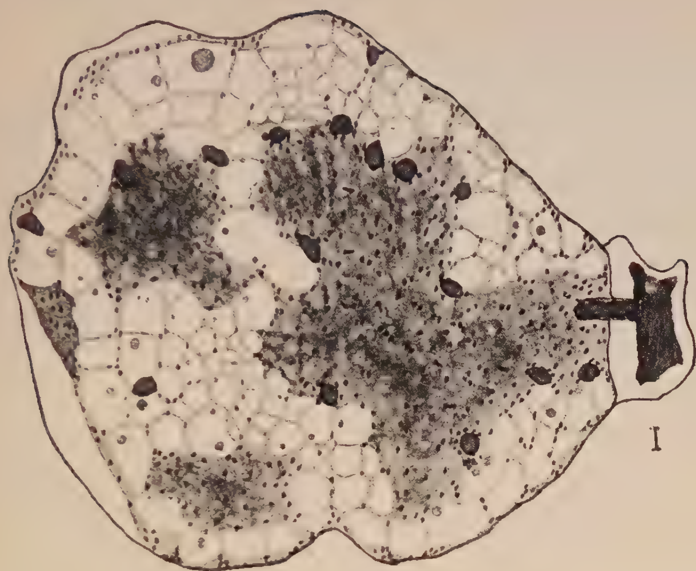

7

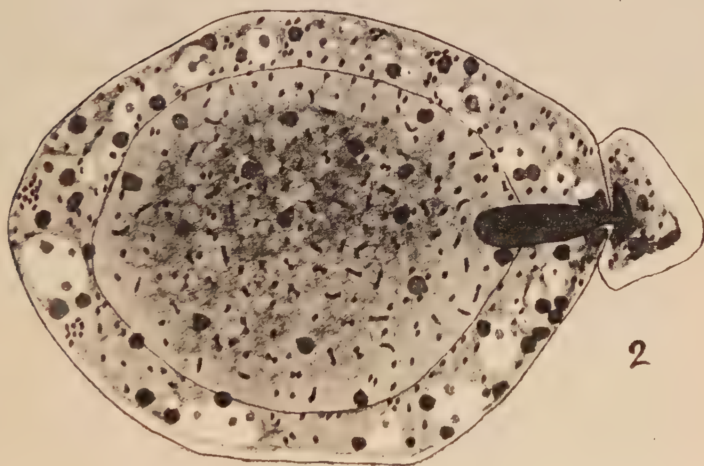

6

PLANCHE VI

Cystopus Bliti — Fix : Regaud.

1. Le tube fécondateur commence à pénétrer dans l'oogone ; dans ce dernier on remarque des amas de cytoplasme dense qui vont se fusionner pour donner l'oosphre rudimentaire. Les cytosomes sont sphériques pour la plupart et l'on voit de volumineuses endochromidies dans les vacuoles,
2. Le tube fécondateur devient plus volumineux et claviforme, mais ne libère pas encore ses noyaux (dans l'anthéridie se trouvent deux noyaux en dégénérescence). Dans l'oosphère on voit à côté de cytosomes sphériques de nombreux cytosomes allongés en bâtonnets.
3. Le tube fécondateur pénètre dans l'oosphère avec 3 noyaux et des cytosomes sphériques. Il est coupé obliquement de sorte qu'on ne voit pas sur la figure ses rapports avec l'anthéridie. Les cytosomes dispersés dans l'ooplasme sont agglomérés dans le périplasme


1


2

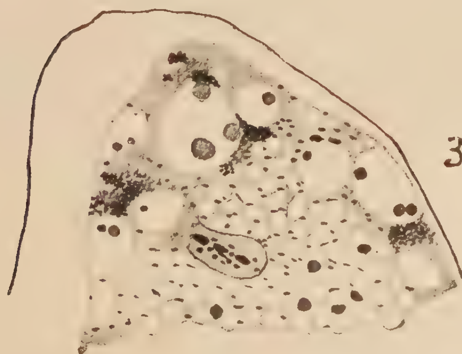
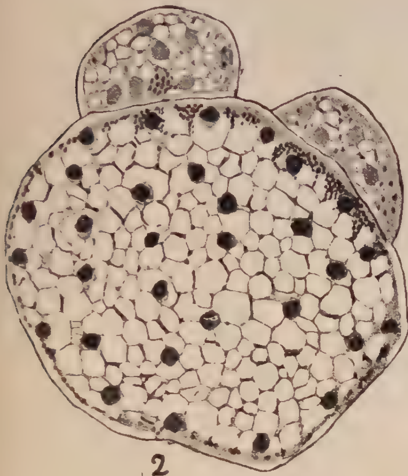
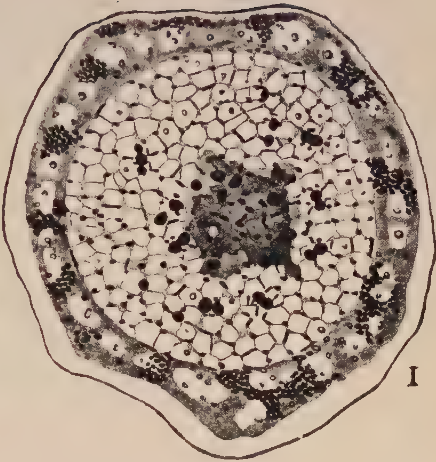

3

PLANCHE VII

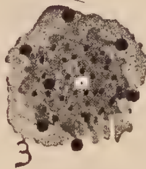
Cystopus Bliti — Fix : Regaud.

1. Stade de fusion des noyaux — les cytosomes sont nombreux, ceux du périplasme sont agglomérés et sphériques,tandis que ceux de l'ooplasme sont dispersés et fréquemment allongés en bâtonnets. On voit en outre des endochromidies.
2. Jeune oogone. On y voit des cytosomes dont plusieurs (situés surtout à la périphérie) sont sphériques et parfois agglomérés et les autres sont allongés en bâtonnets (même état dans l'anthéridie).
3. Une portion de l'oosphère montrant les noyaux autour du coenocentre.
4. On remarque autour du vide qui s'est fait devant l'extrémité du tube fécondateur une zone de cytoplasme dense ; les noyaux contenus dans le périplasme sont un peu plus gros que ceux de l'ooplasme ; nombreux cytosomes sphériques et endochromidies volumineuses dans le périplasme.
5. Le tube fécondateur sans doute courbé a été coupé en deux endroits ; dans la coupe inférieure on voit quatre noyaux.
6. Stade de fusion des noyaux un peu plus avancé que dans la figure 1 ; il n'y a plus de cytosomes en bâtonnets.


2


1


4


3


5

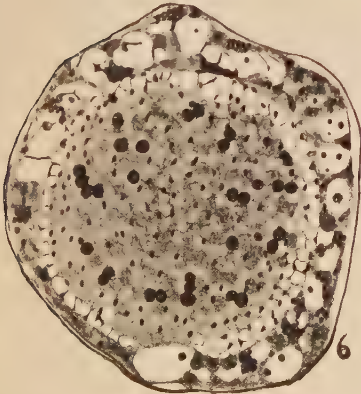

6

PLANCHE VIII

Cystopus Bliti — Fix : Regaud.

1. Stade précédent la fusion ; le tube fécondateur est coupé en deux endroits ? On remarquera dans le périplasme des cytosomes sphériques agglomérés et dans l'oosphère de nombreux cytosomes en bâtonnets.
2. Œuf formé montrant à côté de quatre noyaux (dont deux à nucléole bien net et volumineux) de nombreux cytosomes agglomérés.
3. Stade de différenciation de l'oosphère ; on remarque la différence de taille très nette entre les petites vacuoles de l'ooplasme et les grosses vacuoles à endochromidies du périplasme ; les cytosomes sont fréquemment allongés en bâtonnets trapus.
4. Œuf, montrant autour d'un volumineux globule central des noyaux et de gros cytosomes sphériques.
5. Stade précédent celui de la figure 3 ; les noyaux sont en mitose à la limite de l'ooplasme et du périplasme, mais la fixation au Regaud empêche la différenciation des chromosomes.

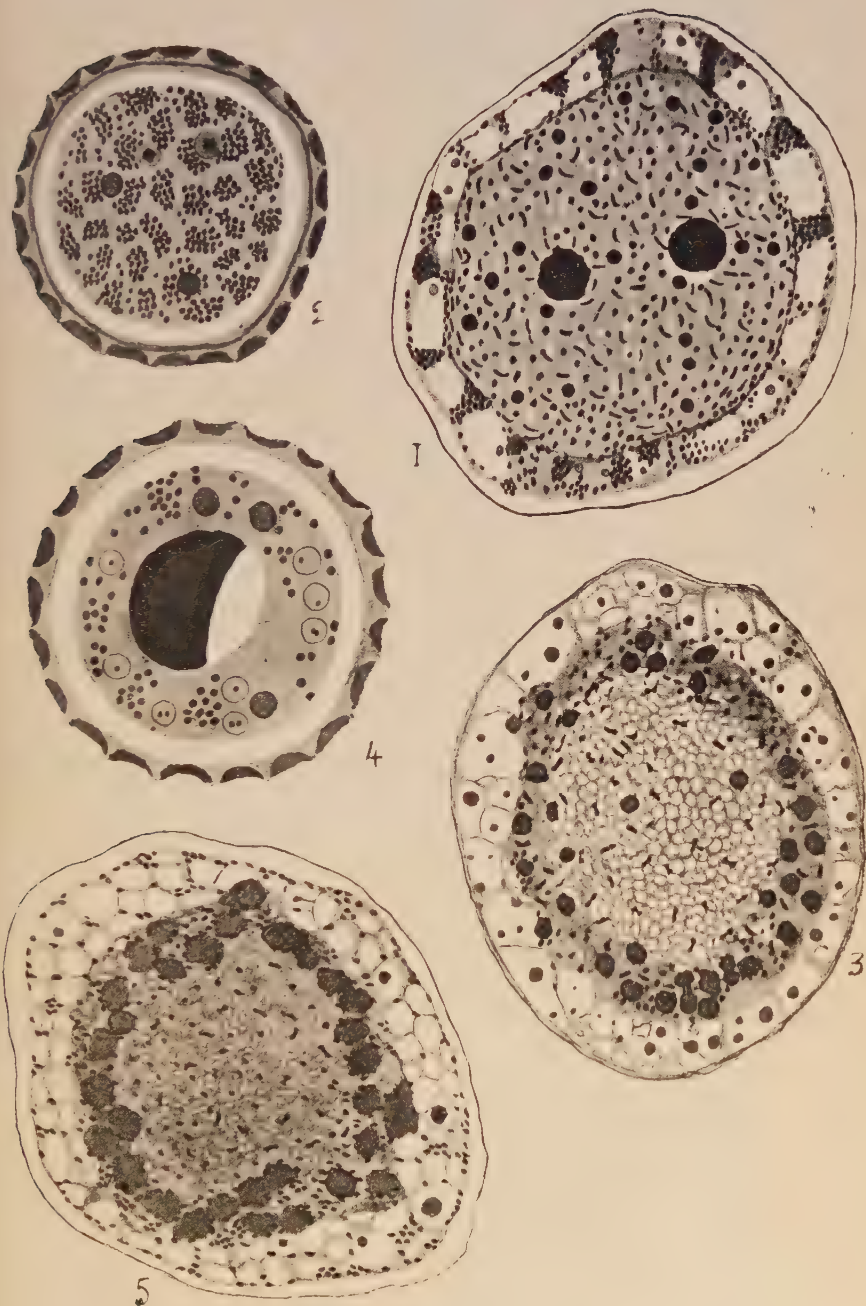

2
1
4
3
5

PLANCHE IX

Cystopus Portulacœ — Fix : Regaud.

1. L'oogone et l'anthéridie avec leurs nombreux noyaux et cytosomes.
2. Ornementation de la coque (vue de face).
3. Au contact de l'anthéridie le cytoplasme et les cytosomes s'accumulent sur l'emplacement de la future papille de l'oogone.
4. Stade de fusion des noyaux. Les cytosomes sont dispersés et peu nombreux, mais, par contre, les vacuoles de l'ooplasme sont bourrées de précipitations chromatiques.
5. Stade de différenciation ; on voit la papille et le coenocentre. Des cytosomes sphériques se trouvent dans l'oosphère rudimentaire et des précipitations chromatiques dans le périplasme.
6. Stade de différenciation. Noyaux sont en métaphase à la limite de l'ooplasme. Beaucoup de cytosomes dans l'oosphère, moins dans le périplasme et l'anthéridie.
7. Fragment de l'oospore — a l'intérieur d'une membrane ornée on aperçoit quatre noyaux, des cytosomes et des endochromidies.
8. Fragment de l'oospore montrant l'endospore et l'exospore bien différenciées.

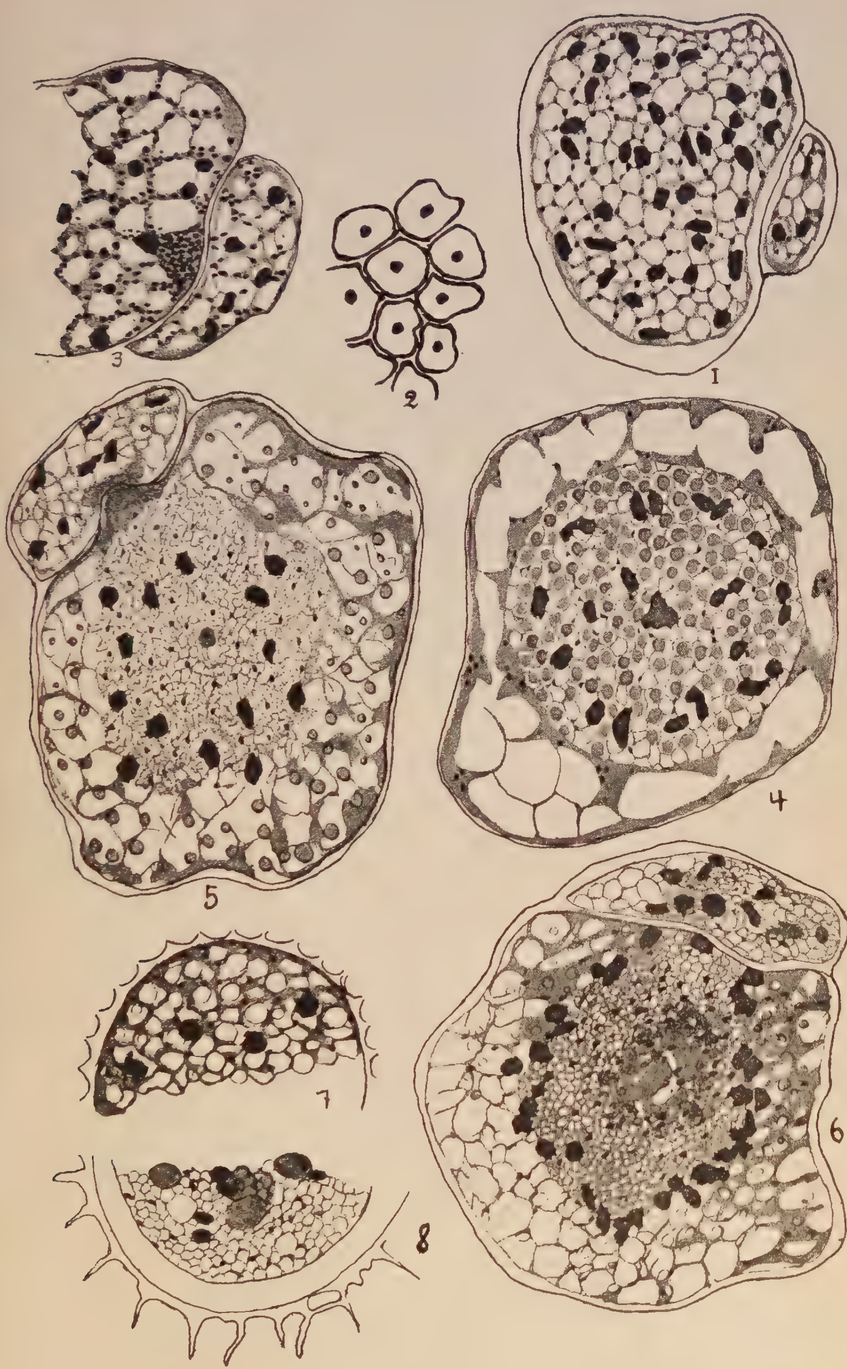

3
2
1
5
4
7
8
6

PLANCHE X

Cystopus Portulacae — Fix : Regaud.

1. Le tube fécondateur commence à pénétrer dans l'oogone (on voit encore dans l'anthéridie les restes de la papille). Dans cette figure comme dans les suivantes de cette planche et de la planche suivante, on remarquera la présence de nombreux cytosomes.
2. Œuf formé contenant des globules qui commencent à s'agglomérer.
3. La papille commence à pénétrer dans l'anthéridie.
4. Stade de différenciation.
5. Le tube fécondateur vient de libérer son contenu.
6. 2 anthéridies s'appliquent sur un même oogone.

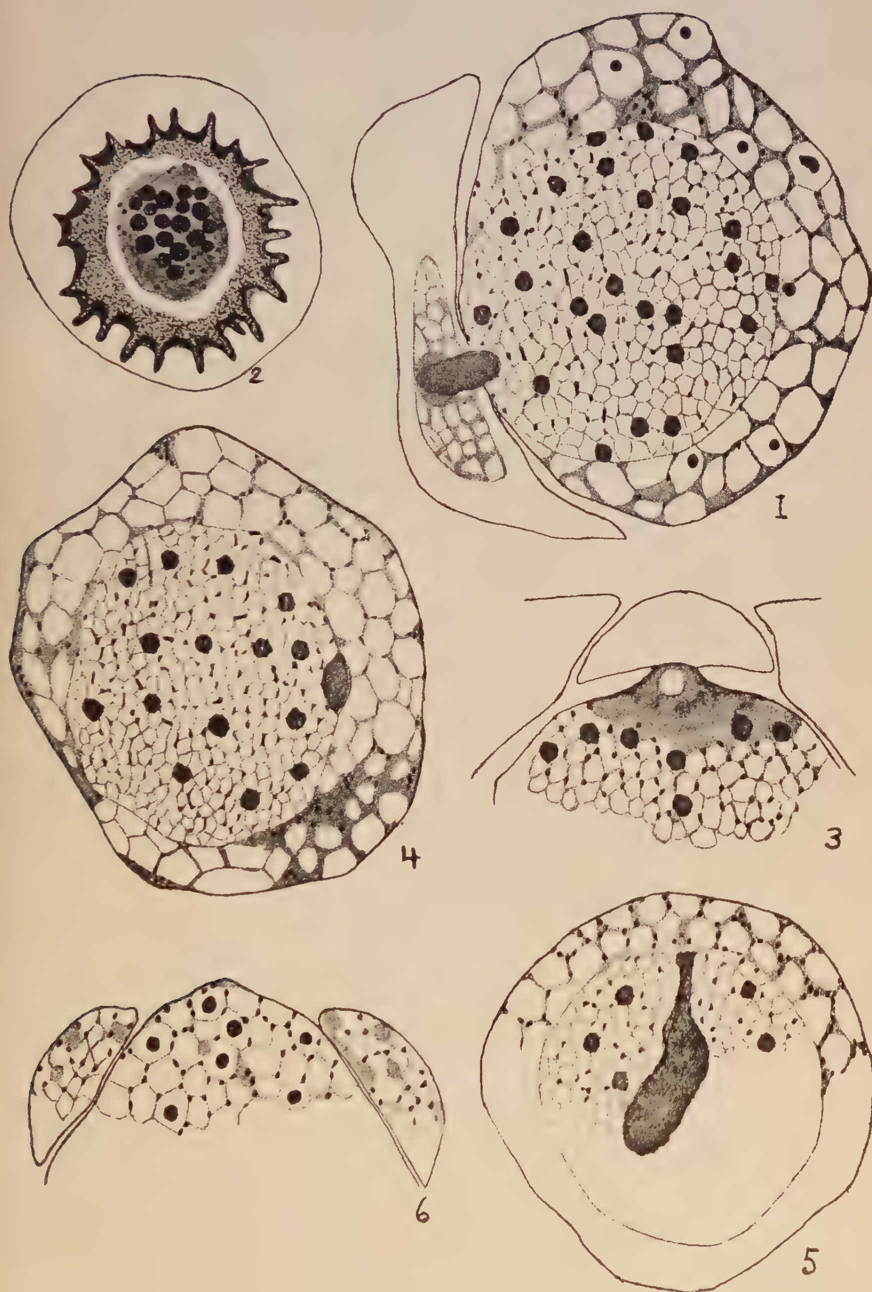
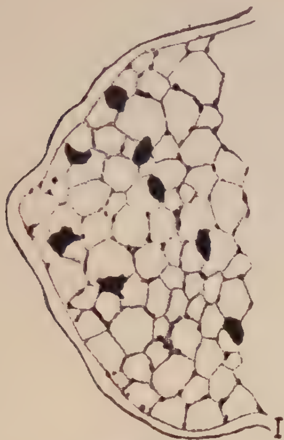
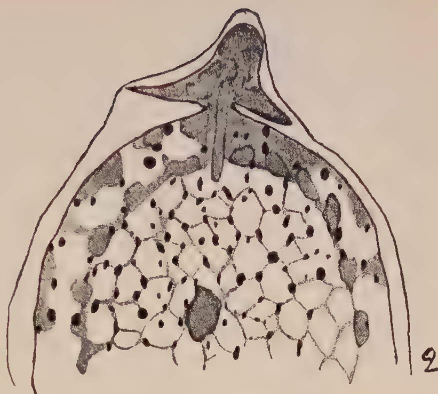

2
1
4
3
6
5

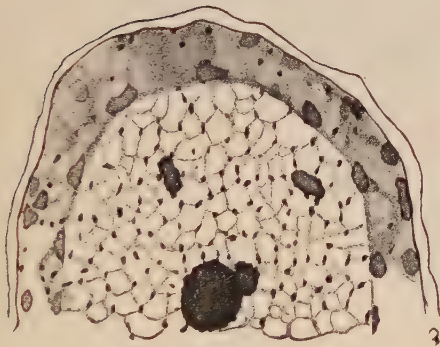
PLANCHE XI

Cystopus Tragopogonis — Fix : Regaud.

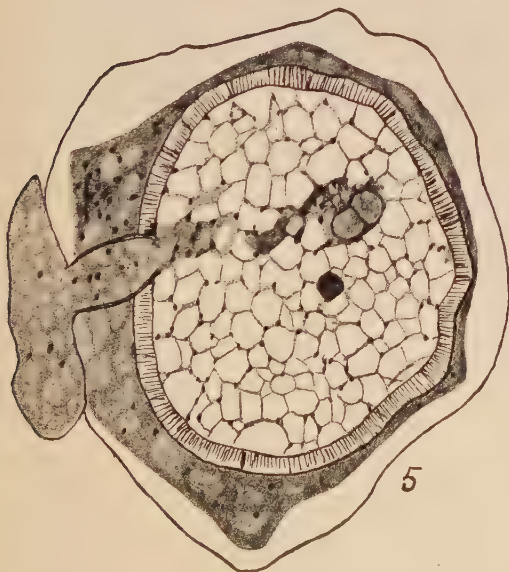
1. Jeune oogone.
2. Le tube fécondateur très grêle a atteint la ligne de démarcation entre l'ooplasme et le périplasme ; le coenocentre est bien développé, c'est le stade de la première mitose.
3. Stade de la deuxième mitose, un noyau est accolé au coenocentre.
4. 2 noyaux en voie de fusion.
5. 2 noyaux se fusionnent — On remarquera que la membrane à canalicule est déjà formée.
6. Cytosomes dans un œuf presque mûr.


1


2


3


4


5

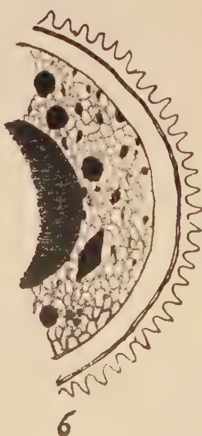

6

PLANCHE XII

Cystopus Tragopogonis — **Fix : chromo-acétique.**

1. Noyaux en prophase dans l'oogone ; dans chacun d'eux on distingue 6 à 8 granules ou davantage qui correspondent peut-être aux chromosomes.
2. Métaphases des mêmes noyaux (On remarquera la netteté des centrosomes dans certains fuseaux).
3. On voit dans le périplasme 7 noyaux destinés à dégénérer, et au contact du coenocentre un noyau sexuel.
4. Stade anormal dont l'explication nous échappe.
5. 2 noyaux en fusion sur des traces du coenocentre.
6. Stade de différenciation : la membrane primitive est déjà bien formée — dans le périplasme des noyaux en dégénérescence, dans l'ooplasme 2 gros noyaux et des corps jaunes (endochromidies).
7. La couche à canalicules est bien formée, les noyaux du périplasme s'agglomèrent, ce qui annonce dégénérescence — dans l'ooplasme un noyau en prophase et un noyau en métaphase.
8. Fragments de deux oospores, montrant divers stades de la mitose, prophases avec de nombreux granules ou une seule masse volumineuse, et métaphases (le nombre des chromosomes est difficile à déterminer).
9. Fragment d'oospore avec double membrane et 3 noyaux au repos.


1
2
3
4
5
6
7
8
9

PLANCHE XIII

Peronospora effusa — Fix : Flemming.

1. La papille commence à pénétrer dans l'anthéridie.
2. Jeune oogone et jeune anthéridie.
3. Prophases montrant la chromatine refoulée d'un seul côté (Synapsis).
4. Stade analogue à celui de la fig. 2.
5. Divers stades de la division des noyaux.
6. Début de la différenciation de l'oosphère — les noyaux sont rangés à la périphérie.
7. Stade analogue à celui de la fig. 5.
8. Stade de la métaphase ; les chromosomes se trouvent dans un espace hyalin entouré de nucléoplasme dense.
9. La distinction entre le périplasme et l'ooplasme est nette et régulière, le coenocentre est bien visible.
10. Stade analogue à celui de la fig. 8.

PLANCHE XIII

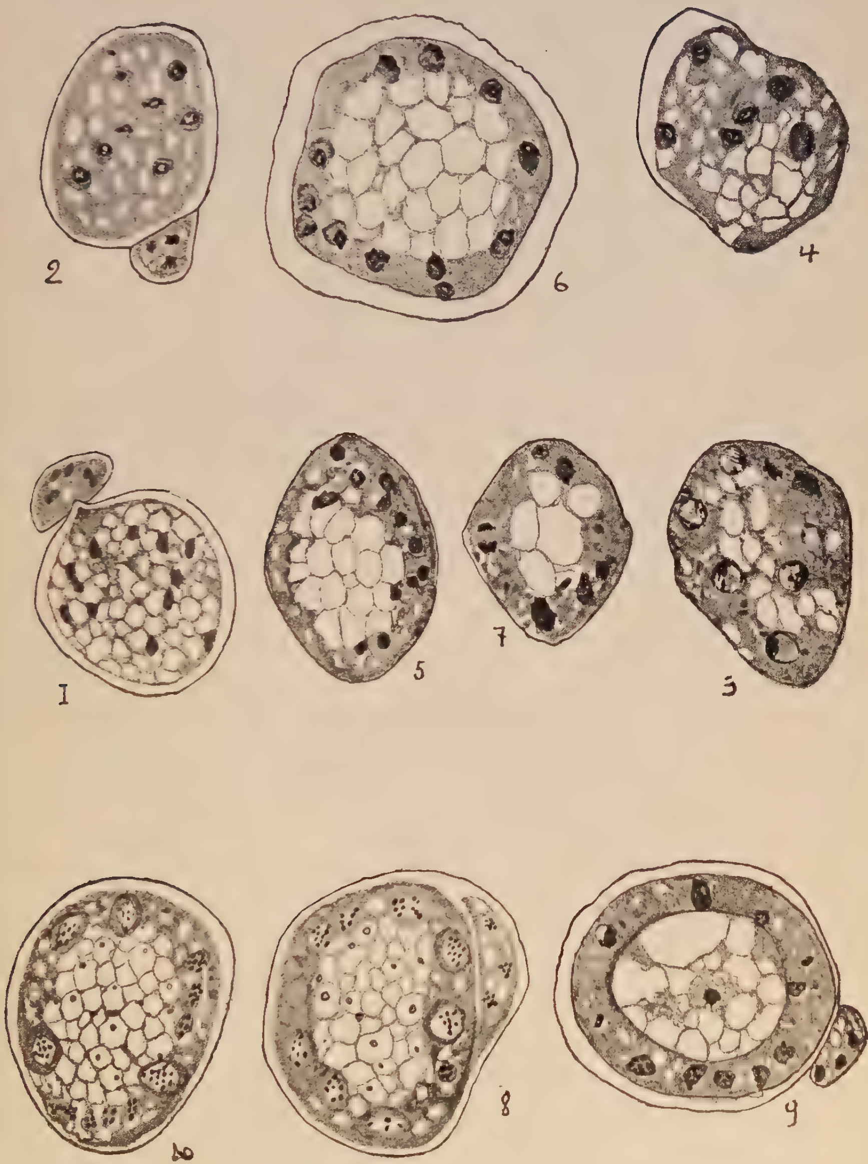
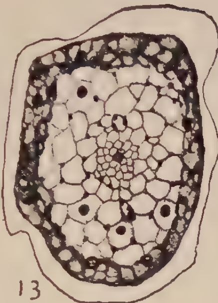


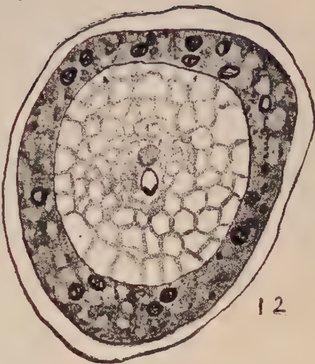
PLANCHE XIV

Peronospora effusa — Fix : Flemming.

11. Le tube fécondateur cylindrique vient d'envoyer un noyau dans l'oosphère:
12. Attraction d'un noyau par le coenocentre — dans le périplasme dense de nombreux noyaux sont en dégénérescence.
13. Début de la différenciation de l'oosphère.
14. 2 noyaux en voie de fusion, avec de nombreux granules chromatiques. Des corps jaunes ou endochromidies dans l'oosphère et dans le périplasme.
15. Stade de fusion un peu moins avancé que le précédent.
16. Deux noyaux sont en voie de se rapprocher.
17. Approximativement même stade que figure 15.
18. Volumineux noyau de fusion dans lequel la chromatine est refoulée à la périphérie.
19. Début de la division du noyau de fusion.

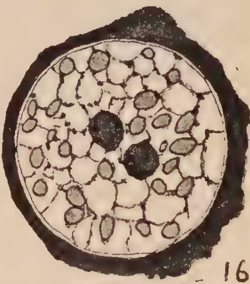

11


13

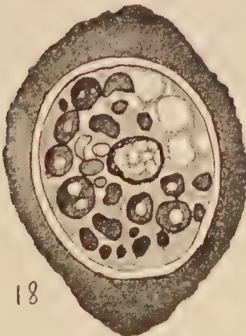

12


14


15


16


17

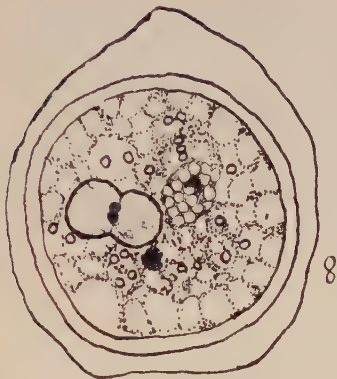

18

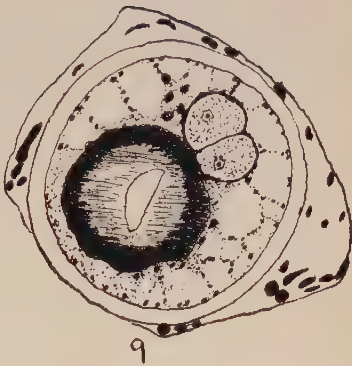

19

PLANCHE XV

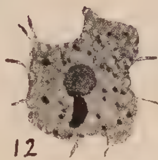
Peronospora effusa. — Fix : Regaud.

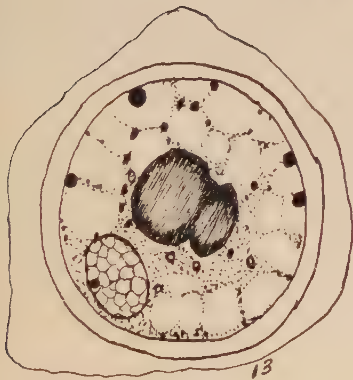
7. L'exospore est en voie de formation. Dans le périplasme, on voit de très gros corpuscules fortement colorés.
8. Deux nucléoles des noyaux en fusion sont en voie de se confondre.
9. Stade un peu antérieur à celui de la fig. 8. Des cytosomes dans l'ooplasme.
10. Noyau de fusion avec un nucléole volumineux.
11. Le coenocentre formé d'une partie dense au milieu, entourée de petites mailles réticulées.
12. Le coenocentre et un noyau à côté de lui.
13. Noyau de fusion avec son réseau chromatique.

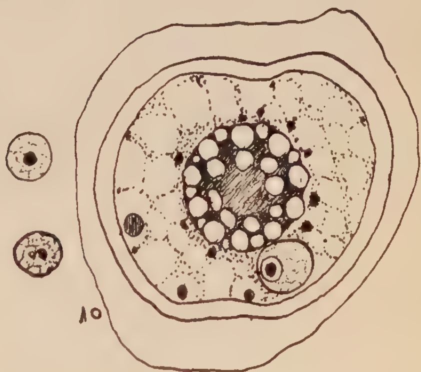

8


9


11


12


13


10

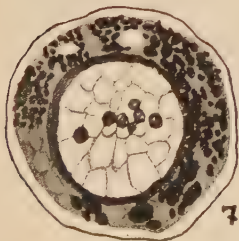

7

PLANCHE XVI

Peronospora effusa — Fix : Regaud.

Les cytosomes sont visibles dans toutes les figures de cette planche : *a*) ils sont très nombreux et souvent en bâtonnet dans le jeune oogone et la jeune anthéridie (fig. 1-2) ; *b*) après la différenciation (fig. 4-5), ils sont souvent nombreux dans le périplasme ; *c*) la figure 3 montre l'apport de nombreux cytosomes par le tube fécondateur.


5
4
2
1
6
3

326. — Impr. Jouve et Cie, 15, rue Racine, Paris. — 6-29.

L'iodovolatilisation chez les Algues marines et les problèmes de l'iode.

Par Pierre Dangeard

Docteur ès Sciences.

INTRODUCTION

Le travail que nous présentons rassemble les résultats des expériences et des observations réalisées depuis plus d'un an sur l'iodovolatilisation des algues marines. Nous y avons exposé aussi complètement que possible nos idées sur ce phénomène remarquable, après des études suivies en différents points de nos côtes, à Quiberon, Wimereux et surtout à Roscoff, et au cours d'une croisière du « Pourquoi Pas ? » dans les mers septentrionales, en Norvège, à Jan Mayen, au Groenland et en Islande.

Depuis que nous avons signalé que des *Fucus* et des Laminaires avaient la propriété d'émettre de l'iode spontanément, aucune réclamation de priorité ne s'est produite à ce sujet. Il y a donc lieu de croire que nous avons été le premier à décrire ce phénomène.

On peut s'étonner qu'une émission d'iode à l'état libre aussi intense que celle des Laminaires soit restée ignorée si longtemps, mais ne doit-on pas remarquer que l'essentiel dans la reproduction de ces algues n'est connu aussi que depuis fort peu de temps. Récemment encore C. Sauvageau

décrivait une nouvelle espèce de grande taille dans la région de Roscoff. Les Laminaires ont donc été depuis quelques années la source de surprises pour les Algologues.

Ce mémoire n'apporte nullement des conclusions définitives sur la plupart des sujets traités, mais il précise et complète les résultats annoncés auparavant dans des notes préliminaires. Certaines parties sont d'ailleurs entièrement nouvelles, comme celles qui ont trait à l'influence des sores sur l'iodovolatilisation des Laminaires, ou à la répartition des iodures dans les stipes, ou à la teneur en iode aux diverses époques de l'année ; un chapitre important a été réservé à ces dernières questions. D'autre part tout ce qui touche à l'iodovolatilisation des Floridées a reçu un grand développement.

Le travail a été divisé en deux parties dont l'une, la plus étendue, est consacrée à l'iodovolatilisation chez les Laminaires, tandis que l'autre se rapporte au même phénomène chez les algues autres que les Laminaires (Fucacées et Floridées).

Nous n'avons pas jugé nécessaire de faire précéder notre exposé d'un compte rendu historique que le lecteur trouvera suffisamment détaillé dans la série XX du *Botaniste*, fascicule III (Contribution à la connaissance du cycle de de l'iode chez les Algues marines), ou dans le cours du présent travail à l'occasion des différents chapitres (1).

1. Les chiffres placés entre [] renvoient à l'Index bibliographique. Les indications bibliographiques qui n'ont pas un rapport direct avec la question de l'iode ont été placées en bas de page.

PREMIÈRE PARTIE

L'iodovolatilisation chez les Laminaires.

I

EXPÉRIENCES FONDAMENTALES

L'iodovolatilisation est un phénomène nouveau dont nous avons reconnu l'existence chez plusieurs algues marines, en particulier chez les Laminaires et qui consiste essentiellement en une émission d'iode à l'état d'élément dans le milieu extérieur [4, 5, 6, 7, 8, 9, 10].

Les expériences qui mettent en évidence ce dégagement d'iode peuvent être réalisées :

1° Sur les algues vivantes en place.

2° Sur les algues recueillies en épave.

3° Sur les algues rapportées au laboratoire coupées, ou entières.

Dans l'exposé qui va suivre nous prendrons comme exemple le *Laminaria flexicaulis* chez lequel l'iodovolatilisation est particulièrement intense.

1° Expériences sur les Algues vivantes en place.

Les *L. flexicaulis* que l'on rencontre aux grandes basses mers peuvent être soit immergées complètement ou partiellement, soit émergées en totalité.

L'expérience montre qu'un papier bristol (1), placé au contact de n'importe quelle région de ces Laminaires (2), se colore en bleu très nettement dans la région touchée au bout d'un temps variable (allant de 1 ou 2 secondes à 20 ou 30 secondes).

Les emplacements les plus actifs sont les régions jeunes (base de la lame, partie supérieure du stipe, etc.), mais les différences d'action ne sont pas très marquées bien souvent. Par exemple une franche coloration bleue se verra au niveau stipo-frondal en trois ou quatre secondes de contact et, sur le milieu de la lame, en sept ou huit secondes par exemple. Il arrive même très souvent que la zone stipo-frondale ne se distingue pas du reste de la lame à ce point de vue.

Ces expériences réussissent sur les Laminaires, qu'elles soient émergées ou non ; mais sur les Laminaires immergées il faut attendre plus longtemps pour observer la réaction et, alors que celle-ci réussit toujours sur les algues à sec, sur les algues plongées dans l'eau on peut avoir un résultat négatif, même après une minute de contact. D'autre part sur les algues immergées l'essai ne peut guère être réalisé à la main qu'à trente ou quarante centimètres de profondeur au maximum.

On peut expérimenter sur les algues dans l'eau, soit en maintenant celles-ci à la profondeur où elles se trouvent naturellement (c'est la manière de faire la plus fréquente), soit en maintenant à une profondeur donnée une algue émergée totalement ou partiellement. Dans ce dernier cas il arrive que l'iodovolatilisation qui était facilement perceptible sur l'algue dans l'air ne soit plus constatée ou seulement d'une manière très faible par le fait de l'immersion.

La coloration bleue du papier sensible indique la production

1. Tout autre papier que le bristol peut être employé naturellement pourvu qu'il soit sensible à l'iode.

2. A l'exception de quelques régions vieilles, en mauvais état, couvertes d'épiphytes comme il sera indiqué plus loin.

d'iode libre au niveau de la surface des Laminaires vivantes.

Cet iode libre d'où provient-il ? La méthode employée exige pour maintenir le contact du papier contre la surface de l'algue une certaine compression du tissu, compression très faible sans doute, mais dont on ne doit pas négliger de tenir compte. Cette compression pourrait à la rigueur provoquer la rupture de réservoirs d'iode situés dans le tissu cortical périphérique, mais cette supposition est indéfendable pour plusieurs raisons : il n'existe pas dans les tissus de *Laminaria flexicaulis* de cellules assimilables à des réservoirs d'iode libre ou *ioduques*, comme on peut s'en convaincre par l'examen histologique. D'autre part la rupture d'ioduques provoquerait une sortie d'iode brusque et momentanée, tandis qu'il est facile de se rendre compte que l'émission d'iode à la surface d'une fronde de Laminaire est continue. Si on laisse le papier réactif en contact plusieurs minutes avec la fronde, on obtient une coloration bleue-noire intense qui va sans cesse en s'accentuant, ce qui indique que l'iode est émis continuellement.

L'iode peut provenir de composés iodés plus ou moins altérables situés dans l'écorce périphérique ; la compression légère peut-elle déclancher un véritable phénomène chimique applicable à ces composés ? il est difficile de l'admettre. Est-ce la chaleur de la main qui influe ? Il suffit d'interposer une planchette entre la main et le papier pour constater que ce facteur n'est pas en cause. Est-ce l'acidité du papier qui agit sur les cellules extérieures ? Du papier rendu alcalin par lavage à l'eau de mer donne toujours le même résultat.

On est donc conduit à admettre l'existence d'un dégagement d'iode à la surface des Laminaires vivantes sous l'action de forces internes. Ce dégagement est absolument spontané et les expériences suivantes le prouvent dans lesquelles on supprime non seulement toute pression, mais même tout contact entre le papier réactif et la fronde de Laminaire ;

cependant le papier bleuit tout de même à quelques millimètres de distance. Ceci est l'expérience fondamentale dont la valeur démonstrative est certaine : un papier bristol humide placé à quelques millimètres de distance d'une partie active de la fronde de *L. flexicaulis* bleuit nettement au bout de quelques minutes. Ce résultat a été obtenu bien des fois sur des Laminaires émergées adultes et, pour qu'il n'y ait prise à aucune discussion, ces Laminaires ne subissaient aucun contact. Un papier sensible était seulement rapproché de la fronde à petite distance et maintenu ainsi environ une minute ; la coloration obtenue est une tache bleue fortement teintée au centre où elle correspond à la région la plus rapprochée de l'algue et dont les bords s'estompent graduellement tout autour. Il est donc absolument démontré que de l'iode volatil passe effectivement dans le milieu extérieur, chez une Laminaire pendant la vie normale (1).

On pourrait enfin songer à une émission par les cellules, non directement d'iode libre, mais d'un liquide iodé qui se décomposerait au contact de l'air. L'absence d'un liquide iodé de ce genre exsudé au dehors résulte des expériences suivantes. Les Laminaires émergées, à moins d'être restées exposées au soleil direct en été, sont ordinairement mouillées d'eau de mer. Après avoir épongé l'humidité au moyen d'un linge fin. on observe tout de même la sortie d'iode au niveau considéré sans qu'aucune trace de liquide soit visible à la surface de la fronde. Bien entendu le papier bristol qui sert de réactif doit être légèrement humide (sans cela la coloration bleue n'aurait pas lieu) et on le place à quelques millimètres de la fronde, sans la toucher par conséquent.

1° Iodovolatilisation sur les L. flexicaulis immergés.

L'iodovolatilisation chez les Laminaires immergées se manifeste par des expériences réalisées au moyen d'un papier

1. Le fait pour un *L. flexicaulis* d'émerger aux grandes marées basses peut en effet être qualifié d'exceptionnel, mais non d'anormal.

réactif qu'on maintient par une légère pression au contact des frondes. Il n'a pas été possible tout d'abord de déceler l'émission d'iode à distance, ce qui s'explique sans doute par la nature du milieu interposé et par l'intensité plus faible du phénomène sur les algues immergées.

Il était difficile cependant de croire que la pression qui n'est pas la cause agissante du dégagement d'iode sur les algues émergées, le devenait sur les algues immergées dans l'eau, d'autant plus que la pression qu'il faut exercer pour maintenir un papier réactif au contact d'une Laminaire dans des profondeurs de vingt ou trente centimètres d'eau est très faible.

Néanmoins nous avons voulu réaliser un dispositif commode qui permette de reconnaître avec certitude que les Laminaires immergées rejettent de l'iode au dehors. Pour cela nous avons interposé entre la fronde d'une algue immergée et le papier bristol une lame de carton épais ou de métal, percée de trous n'excédant pas trois millimètres de diamètre. Pour mettre en train une expérience, on place successivement sur une fronde de Laminaire recouverte de quelques décimètres d'eau, l'écran de carton, le papier bristol, puis un poids léger pour maintenir le tout. Si la feuille de carton a une épaisseur de 1 ou 2 mm., il n'y a aucun contact direct entre l'algue et le papier sensible et de la sorte, au niveau des fenêtres ménagées dans l'écran, l'algue et le papier sont séparés l'un de l'autre par un très petit intervalle, circonstance favorable à la réussite de l'expérience. A plusieurs reprises nous avons pu de cette façon enregistrer le dégagement d'iode en observant la coloration bleue produite à travers les perforations de l'écran. L'expérience doit durer plusieurs minutes pour donner un résultat appréciable.

Le dispositif précédent peut servir également à caractériser la production à distance sur une Laminaire émergée ; on obtient alors plus rapidement la coloration. Nous avons

aussi fait usage de treillis métalliques qui, interposés sur le trajet des vapeurs d'iode, se décalquent avec leur forme sur le papier bristol en donnant une image négative. Un papier mince non troué, interposé entre une fronde de Laminaire et un bristol, laisse passer l'iode qui colore ensuite le papier amidonné.

Les algues immergées plus profondément échappent aux moyens d'investigation habituels ; aussi avons-nous eu recours au dispositif suivant, réalisé avec l'aide des marins de la station biologique de Roscoff [10].

Nous avons utilisé des plombs de sonde cylindriques peu élevés du poids de 1 à 3 kgr. auxquels étaient fixées des planchettes carrées de 1 dm. de côté. A la partie inférieure des planchettes était clouée une feuille de papier bristol de même dimension et l'appareil ainsi constitué pouvait être descendu en mer au-dessus d'un champ de Laminaires immergées, de façon à faire reposer la planchette garnie de son papier sensible sur la fronde d'un *Laminaria flexicaulis.*

En se servant de la lunette de calfat il était facile de choisir un emplacement favorable, soit sur une partie de la lame, soit sur la zone stipo-frondale, soit sur le stipe. Il fallait d'autre part trouver un champ de Laminaires suffisamment abrité pour n'être pas gêné par les mouvements du canot. Aux environs de Bloscon, en s'amarrant sur les rochers aux environs de la passe, on se trouve dans des conditions favorables et, par deux ou trois mètres de fond, avec l'aide de la lunette d'eau, on distingue admirablement tous les détails des algues qui vivent là enchevêtrées.

La durée des expériences a été uniformément de une minute et, au bout de ce temps, successivement à 1 mètre, à 2 mètres, puis à 3 mètres, nous avons observé en relevant le plomb de sonde que le papier sensible s'était coloré en bleu en plusieurs points très nettement. Les emplacements colorés étaient visiblement les points où le contact était le mieux assuré entre le papier et la fronde, car, à cause des

inégalités du fond, il n'était pas possible d'obtenir une adhérence parfaite et surtout une adhérence uniforme, mais dans certains cas, nous avons obtenu le décalque en bleu de la région stipo-frondale (fig 1, p. 137). Le même résultat a été obtenu en se servant d'une planchette du même genre fixée au bout d'une gaffe de 3 mètres de long.

Dans ces expériences il n'est pas douteux qu'une pression assez forte entre en jeu, d'autant plus que, même avec l'emploi du plomb de sonde, la pression ne se répartit pas également sur toute la surface de la planchette. Néanmoins nous sommes à peu près certain que cette manière de faire n'entraîne ni lésions ni traumatismes, mais seulement une compression que le tissu ferme et élastique d'une Laminaire supporte parfaitement sans être endommagé (1). Etant donné qu'il est difficile d'attribuer à une pression même forte la sortie d'iode observée et que la série des expériences précédentes montre que la pression n'intervient pas, sinon pour faciliter l'observation de l'iode dégagé, il semble bien qu'on soit fondé à admettre l'iodovolatilisation sur les Laminaires immergées jusqu'à 3 mètres de profondeur et peut-être plus bas encore.



Fig. 1. — Décalque de la région stipo-frondale d'un *L. flexicaulis* obtenu à 3 mètres de profondeur sur un papier amidonné.

2° Expériences sur les algues épaves.

Les *Laminaria flexicaulis* détachées des rochers et jetées à la côte peuvent être encore relativement fraîches et en bon état. Dans ce cas elles donnent les mêmes réactions que les algues en place, c'est-à-dire qu'un papier amidonné bleuit

1. De nombreuses expériences ont montré qu'en exerçant une pression sur un point quelconque d'une fronde de Laminaire, on ne détermine pas une plus forte sortie d'iode dans la région comprimée que dans les zones avoisinantes qui n'ont pas subi de compression préalable.

très rapidement à leur contact. Souvent même ces algues rejetées sont de grande taille et plus développées que les exemplaires moyens observés au bas de l'eau à marée basse et ces gros individus sont toujours très actifs dans l'iodovolatilisation. Mais si l'on excepte le cas de ces gros pieds de Laminaires détachés depuis peu, l'iodovolatilisation chez les algues rejetées est toujours plus faible et surtout plus irrégulièrement répartie que sur les algues en place. Lorsque les Laminaires ont été transportées assez haut sur le littoral et qu'elles ont subi des périodes d'émersion prolongées, elles deviennent de moins en moins actives. Il est rare d'autre part qu'une Laminaire qui, après avoir été détachée, a trouvé abri contre le desséchement dans une cuvette de rocher ne présente pas encore assez fortement l'iodovolatilisation.

Même dans les tas de goémon que les riverains rassemblent sur les bords de la côte les fragments de *Laminaria flexicaulis* émettent souvent de l'iode libre facile à reconnaître. Il est naturellement difficile d'évaluer ce qu'une algue rejetée peut perdre d'iode par volatilisation, à partir du moment où ces pertes ne peuvent plus être compensées par une absorption correspondante [6].

3° Algues coupées.

Les Laminaires, lorsqu'elles sont en place et qu'elles émergent pendant une heure ou deux tout au plus aux grandes basses mers, émettent toujours de l'iode d'une manière intense par toute leur surface. Nous avons cherché à plusieurs reprises à déterminer le degré de généralité du phénomène et nous sommes arrivé à cette idée que l'iodovolatilisation est aussi normale chez ces Laminaires en place que peut l'être la respiration par exemple. Nous n'avons pas rencontré d'exemplaires de *L. flexicaulis* en bon état (sauf les jeunes plantules) qui soitdépourvu d'activité iodogène.

Il est difficile de transporter un grand nombre de *L. flexicaulis* adultes et entières pour les étudier au laboratoire. D'ailleurs il est bien rare qu'on ne coupe pas dans ce cas quelques crampons à la base, aussi parlerons-nous surtout maintenant des Laminaires coupées.

La meilleure méthode consiste à détacher les pieds de *L. flexicaulis* à la base au niveau des crampons et de trancher la lame à sa partie inférieure, de sorte qu'on emporte pour les études ultérieures le stipe au complet avec le bas de la lame. Les Laminaires ainsi préparées présentent le minimum d'encombrement et elles ne risquent pas de s'altérer durant le transport sous l'enchevêtrement des frondes.

Avant de parler des expériences que l'on peut faire sur les Algues ainsi transportées, nous indiquerons celles qu'on peut réaliser sur place avec des Laminaires sectionnées.

1° *Influence des traumatismes.*

Si l'on choisit un *L. flexicaulis* dont le stipe placé sur le papier amidonné produit une bande bleue très nette en quelques secondes et qu'on en détache un tronçon du stipe d'une dizaine de centimètres de longueur pour le placer à la surface d'un papier sensible, on observe à nouveau dans les mêmes conditions une bande bleue. La coloration s'étend jusqu'au niveau des surfaces de section, où parfois s'observe une teinte un peu plus forte, mais, dans l'ensemble et à part ce léger renforcement au voisinage de la blessure, le phénomène est resté le même. La surface de section elle-même, mise au contact du papier amidonné, ne donne aucune coloration en regard des tissus coupés.

Ces tronçons de stipe de *L. flexicaulis* se prêtent aux expériences suivantes :

a) Plusieurs morceaux sectionnés du stipe provenant d'une Laminaire fraîche sont placés dans un tube à essai de façon

à se trouver à une certaine distance de l'ouverture du tube. Cette ouverture est ensuite obturée par un capuchon de papier bristol prenant appui sur les bords du tube. La fermeture n'a pas besoin d'être hermétique. Dans ces conditions il est facile d'observer le bleuissement du capuchon de papier (qui doit être humide), au bout d'un



Fig. 2. — Expérience montrant le dégagement d'iode à distance : un tube à essai contenant deux fragments du stipe vivant de *L. flexicaulis* est fermé par une rondelle de papier bristol humide qui se colore en bleu à distance au bout de plusieurs minutes.

temps variable avec la distance qui le sépare du fragment de Laminaire. Dans certaines expériences, le bleuissement a été observé au bout d'une heure à une distance de 4 centimètres de la source d'émission (fig. 2, p. 140).

Dans cette expérience il est indéniable que de l'iode libre a été émis au dehors en assez grande quantité pour venir impressionner à distance un papier amidonné. Cette émission d'iode est produite par toute la surface du stipe jusqu'au voisinage des régions coupées, mais elle n'est pas produite par les tissus sectionnés eux-mêmes.

b) L'expérience précédente indique qu'un tronçon de Laminaire fraîche, placé dans un tube à essai, y dégage une certaine quantité d'iode. Nous avons cherché à rassembler les traces d'iode ainsi émises au dehors par agitation dans une petite quantité de benzine ou de chloroforme. On opère de cette façon : le fragment de stipe est laissé un quart d'heure ou une demi-heure dans le fond d'un tube à essai soit ouvert, soit fermé par un bouchon. Au bout de ce temps on retire avec des pinces le morceau de Laminaire, on ajoute

quelques gouttes de benzine ou de chloroforme et on agite fortement. Dans ces conditions nous n'avons jamais obtenu la coloration caractéristique de l'iode en dissolution, ce qui montre que les traces d'iode obtenues dans l'atmosphère du tube à essai sont trop faibles pour être reconnues de cette façon.

c) L'expérience peut être réalisée comme précédemment, mais, au lieu d'enlever le fragment de stipe, on le laisse dans le tube à essai et on ajoute quelques gouttes de benzine. On agite ensuite à plusieurs reprises et, lorsque la benzine se rassemble au fond du tube à essai, on observe qu'elle a pris une légère teinte violette. Cette coloration indique la présence en dissolution d'une petite quantité d'iode libre ; en effet un papier amidonné bleuit légèrement au contact de cette solution. La coloration prise est d'ailleurs assez caractéristique par elle-même de l'existence d'iode libre.

Le fait que cette expérience réussit indique que la benzine a pu dissoudre et entraîner une certaine quantité d'iode libre encore adhérente aux tissus de la Laminaire. Nous ne croyons pas que la benzine ait pu provoquer la décomposition d'un composé iodé labile situé dans les cellules périphériques, mais nous pensons que de l'iode libre se trouvait retenu avant son émission au dehors dans la membrane des cellules externes et que la benzine a eu pour effet de l'entraîner et de la rassembler.

L'expérience précédente peut réussir sur des tronçons de stipes venant d'être placés dans des tubes à essai, avant qu'une quantité d'iode importante ait pu être déversée dans l'atmosphère du tube.

Par conséquent il est certain que la benzine, agissant sur la surface des stipes de Laminaires fraîches, recueille et entraîne avec elle une petite quantité d'iode libre. D'autres expériences, dont il sera question plus loin, permettent de penser que cet iode provient, non des cellules périphériques

atteintes par le dissolvant, mais de l'épaisse membrane imprégnée d'iode qui les limite à l'extérieur.

2° *Iodovolatilisation chez les algues coupées, après leur récolte.*

Les Laminaires recueillies sont d'abord très actives dans les premières heures qui suivent la récolte. En apparence il n'y a rien de changé ; leur vitalité est la même à peu de chose près et l'iodovolatilisation conserve une grande intensité.

Cependant l'iodovolatilisation n'est nullement augmentée dans son ensemble sur les algues coupées ; bien au contraire il se produit bientôt des irrégularités, des diminutions d'activité en un point ou un autre et même parfois, au bout de quelques heures seulement, la cessation complète de l'émission d'iode. Il n'est donc pas légitime de prétendre, comme l'ont fait certains, soit que l'iodovolatilisation est due aux traumatismes, soit que ce phénomène s'observe principalement sur les algues détachées et dans des conditions anormales : c'est le contraire qui est exact.

Presque toujours une Laminaire qui a été recueillie et conservée à l'humidité, mais sans précautions spéciales, ne présente plus d'activité iodogène, rapidement appréciable, au bout de vingt-quatre heures.

Au laboratoire de Roscoff, nous avons placé des *L. flexicaulis* aussitôt après récolte dans un bac à courant d'eau de mer et nous avons conservé certaines d'entre elles plus de trois semaines ainsi en très bon état. Ces Laminaires examinées journellement ont volatilisé de l'iode constamment jusqu'au dernier jour de l'expérience, mais l'activité dans son ensemble se maintenait à un degré nettement moindre que chez les algues en place. Par exemple l'intensité était environ dix fois moindre que sur les Laminaires normales et

la coloration bleue d'un papier amidonné s'observait au bout d'un temps dix fois plus long.

Sur ces algues conservées dans un bac il était particulièrement facile d'observer l'iodovolatilisation sous une certaine épaisseur d'eau. Les algues coupées rapportées au Laboratoire se prêtent à une foule d'expériences ; elles permettent de reconnaître commodément l'émission d'iode à une distance de quelques millimètres ou même de un ou deux centimètres d'un papier amidonné qui bleuit au bout d'un temps variable. On peut essuyer la surface de l'algue avec un chiffon et s'assurer que la volatilisation ne s'accompagne d'aucun rejet de liquide ou de mucus à l'extérieur ; la surface de l'algue reste non mouillée.

Lorsque les Laminaires, au bout de 24 ou de 48 heures ne dégagent plus d'iode d'une manière appréciable, on peut les abandonner sous une pression modérée, au contact d'un papier bristol qui a bleui plus ou moins fortement lorsqu'on l'examine au bout d'une heure ou deux.

4º Influence de l'age des algues et influence des sores sur l'iodovolatilisation.

Les très jeunes plantules que nous avons récoltées à marée basse ont une taille qui va de quelques millimètres à un décimètre environ. Nous avons laissé de côté les très petites plantules ayant moins de 5 mm. de long, mais, sur celles qui dépassent cette taille et jusque sur celles qui atteignent environ 1 dm. de longueur, nous n'avons pas observé d'iodovolatilisation.

Pour les plantules de deux ou trois décimètres de longueur la volatilisation est d'ordinaire peu intense. Pour l'observer il est parfois nécessaire de placer les plantules un certain temps sur un papier sensible en assurant le contact au moyen d'une légère pression.

Pour les plantules de moins de dix centimètres il n'est pas possible, même par ce moyen, de mettre en évidence de l'iodovolatilisation.

La taille de dix centimètres que nous indiquons comme limite inférieure de l'activité iodogène des plantules n'a d'ailleurs rien d'absolu. En effet il arrive que de jeunes Laminaires qui n'atteignent pas une taille élevée sont tout de même plus âgées que des plantes plus longues. En un mot la taille n'est pas un critérium absolu de l'âge et il existe des différences individuelles de développement.

Avec ces réserves on peut dire que les plantules de *L. flexicaulis* jusqu'à la taille d'environ dix centimètres sont absolument inactives dans l'iodovolatilisation, dans les limites des expériences faites.

La période de formation des spores chez le *L. flexicaulis* est principalement l'automne. A cette époque, en septembre et en octobre à Roscoff, la majorité des exemplaires adultes présentent des sores à divers états de développement à l'extrémité des lanières sur une certaine longueur.

Ces sores se reconnaissent à l'œil nu à leur teinte brune ; ils forment des taches irrégulières, à contours arrondis, plus ou moins étendues, qui sont en léger relief à la surface des frondes et se correspondent à peu près d'une face à l'autre. Ces sores sont séparées les uns des autres par des régions stériles où le thalle a conservé son aspect normal.

Les sores occupent une longueur variable de l'extrémité de la lame ; les plus jeunes sont ceux qui se trouvent le plus bas sur la lame, ceux de l'extrémité sont d'ordinaire vidés de leur contenu et destinés à disparaître par usure terminale en même temps que la partie la plus âgée de la fronde.

Les sores mis au contact d'un papier bristol le colorent en bleu d'une manière intense; les parties stériles de la fronde au voisinage des sores se comportent de même, mais il y a presque toujours une différence d'intensité de l'iodovolatilisation entre les régions fructifiées et les régions stériles,

de sorte que les sores sont généralement décalqués avec leur forme particulière sur le papier sensible. Ce résultat est obtenu souvent en quelques secondes de contact.

Presque toujours ce sont les sores qui produisent une émission d'iode plus forte que les parties non fructifiées voisines ; en tous cas le fait est exact pour les sores jeunes. Plus tard, lorsque le sore est âgé, vers l'extrémité de la fronde, c'est l'inverse qui se produit. Il faut tenir compte pour apprécier exactement ces résultats que les sores étant en léger relief s'appliquent un peu plus facilement sur le papier que les régions voisines.

La forte iodovolatilisation au niveau des sores jeunes est un exemple de plus de la relation qui existe entre l'émission d'iode et les régions de forte activité vitale. On trouverait de même sans doute que les autres fonctions et la respiration en particulier, sont plus fortes au niveau des sores jeunes.

5° Influence de la saison.

Contrairement aux premières prévisions la saison n'apporte pas de changements bien appréciables à l'iodovolatilisation des Laminaires. Quelle que soit l'époque de l'année on observe sensiblement le même phénomène, qui n'est nullement interrompu durant la saison froide en particulier.

La période de l'année intervient ici surtout par les différences qu'elle provoque dans la température de l'eau, dans celle de l'air et dans l'intensité de la radiation solaire. Il faut donc admettre que ces variations n'ont pas d'influence marquée, dans la limite de nos expériences et tenu compte de leur degré de précision, sur l'émission d'iode libre. La variation existe sans doute, mais il sera nécessaire pour l'apprécier de faire des mesures spéciales. Ce qui complique l'influence saisonnière c'est que des individus d'âges divers peuvent se rencontrer à toute époque. De même, d'après Sauvageau,

le *L. flexicaulis* peut se rencontrer fertile toute l'année dans la région de Roscoff et le fait n'est peut-être pas particulier à cette station.

6° Influence de la station.

Le *Laminaria flexicaulis* varie comme l'on sait d'un point à un autre et il semble bien que les deux principales formes que l'on rencontre sur nos côtes correspondent l'une au mode abrité, l'autre au mode battu. La première est assez bien représentée par les *L. flexicaulis* rencontrés à Wimereux, tandis que les seconds s'observent en abondance sur certains points de la côte bretonne, à Quiberon par exemple.

Les Laminaires de Wimereux ont paru être légèrement moins actives que les autres. Il est bien possible que les eaux très aérées comme celles des côtes exposées représentent un facteur favorable à l'iodovolatilisation.

Si l'on met à part quelques différences de ce genre, assez faibles d'ailleurs, il est certain que la station n'a pas d'influence très grande sur le phénomène. Au cours de la croisière du « Pourquoi Pas ? » pendant les mois de juillet et août 1928, nous avons eu l'occasion d'observer dans les régions septentrionales les mêmes manifestations d'émission d'iode chez les *L. flexicaulis* que sur les algues de nos climats. En Norvège, sur la côte ouest, l'eau de la mer en été atteint une température assez élevée grâce à l'influence du Gulf Stream, mais sur les rivages de l'île Jan Mayen, l'eau en juillet ne dépasse pas 3 ou 4° au-dessus de zéro. Cette basse température n'entrave nullement l'iodovolatilisation, qui se produit également dans une atmosphère relativement froide. Des *L. flexicaulis* de tailles diverses recueillis en bon état sur les plages de galets bleuissaient un papier amidonné comme les algues de nos régions, mais tout de même moins fortement.

Quant aux *L. flexicaulis* sur lesquels nous avons expéri-

menté en Islande au cours de la même mission, ils présentaient les mêmes caractères que les algues de France en ce qui concerne leur pouvoir émetteur d'iode. Ils étaient extrêmement actifs, bien que la température moyenne d'été en Islande soit assez faible, comparable à celle de notre mois de novembre par exemple [7].

7° Différentes espèces.

Les différentes espèces de Laminaires n'ont plus les mêmes propriétés au point de vue de l'iodovolatilisation. On sait déjà que la teneur en iode est très variable ; elle n'est très forte que chez les diverses espèces du genre *Laminaria* dont on connaît des analyses. Elle est au contraire tout à fait réduite chez le *Saccorhiza bulbosa* et l'*Alaria esculenta.* Or l'iodovolatilisation d'après nos recherches n'atteint une grande intensité que chez les algues riches en iode.

Les espèces de *Laminaria* dont nous avons étudié le comportement sont : le *L. flexicaulis,* algue très riche en iode, qui a été pris comme principal sujet d'expérience ; le *L. saccharina,* un peu moins riche que le précédent ; le *L. Cloustonii* très riche en iode, mais qui présente certaines particularités à cause de son stipe rugueux souvent couvert d'épiphytes et son mode spécial de renouvellement de la lame ; le *L. Lejolisii* Sauv., Laminaire découverte récemment aux environs de Roscoff par Sauvageau qui contient certainement de l'iode en abondance mais dont on ne connaît pas d'analyses.

1° L. saccharina. — Le *Laminaria saccharina* ne présente pas de particularités bien notables en ce qui concerne l'iodovolatilisation. Le stipe est actif sur toute sa longueur et il existe comme chez le *L. flexicaulis* un certain maximum d'intensité dans la zone stipo-frondale. La lame est souvent gaufrée et ce caractère gêne un peu l'application de la méthode du papier amidonné.

Une bonne partie de la fronde est souvent occupée par des sores irréguliers indépendants qui peuvent parfois se réunir et former un sore unique très étendu et continu dans le milieu de la fronde.

Sur un exemplaire adulte de *L. saccharina* recueilli en octobre à Roch Ilievec près de Roscoff et qui présentait ce dernier caractère nous avons remarqué que le sore et la lame dans la partie moyenne ne produisaient pas ou très peu d'iodovolatilisation. Au contraire à la base de la lame, à l'endroit où le sore est bien net, bien visible et au début de son développement, nous avons observé un bleuissement intense du papier amidonné au contact du sore en moins d'une minute de contact, tandis que la bordure frangée de la lame, région stérile, ne donnait aucune coloration. Il y a donc, comme chez le *L. flexicaulis*, une forte activité des sores dans leur état jeune, qui s'oppose à la faible activité du tissu stérile voisin.

2° L. Cloustonii. — Le *Laminaria Cloustonii* présente ce caractère de posséder un stipe rigide, à surface rugueuse sur une grande partie de sa longueur. Seul le haut du stipe possède une surface lisse sur quelques centimètres de long. C'est une région jeune qui, même sur les exemplaires de la plus grande taille, conserve toujours un faible diamètre. L'aspect chagriné du stipe se développe avec l'âge : il n'existe pas sur les jeunes exemplaires dont le stipe est lisse du haut en bas. Sur ces plantules jeunes l'iodovolatilisation a lieu sur toute la longueur du stipe, tandis qu'à mesure que l'algue grandit, l'iodovolatilisation cesse à peu près complètement dans les régions à épiderme rugueux. Les pieds adultes dont le stipe peut atteindre 1 m. 50 et même plus de hauteur avec une largeur de 3 ou 4 cm. à la base ne montrent plus d'iodovolatilisation que sur une faible longueur dans le haut du stipe.

Le stipe de *L. Cloustonii* adulte est presque toujours revêtu d'épiphytes variés tels que *Rhodymenia palmata*, et *pal-*

metta, *Lomentaria articulata*, *Polysiphonia*, etc. Nous avons pensé que si la rugosité du stipe devait faciliter l'implantation des embryons d'algues étrangères, elle n'était peut-être pas seule en cause. En effet on peut supposer qu'une émission d'iode intense à la surface du stipe peut tuer ou détruire les spores ou les embryons d'autres algues qui pourraient se fixer sur elle. Il ne paraît d'ailleurs pas très difficile d'instituer des expériences pour vérifier le bien-fondé de cette hypothèse : on pourrait chercher à provoquer la fixation de spores d'algues diverses sur des Laminaires et suivre leur destinée.

Il est bien remarquable de voir des frondes de *L. flexicaulis*, offrir des surfaces considérables dépourvues d'épiphytes et dépourvues même de ces diatomées en coussinets si fréquentes sur d'autres supports (*Cocconeis*). Cependant notre idée n'est évidemment qu'une hypothèse en l'absence d'expériences précises. L'absence d'épiphytes sur la partie supérieure lisse du *L. Cloustonii* peut s'expliquer sans invoquer l'iodovolatilisation, puisque cette région, de formation récente, ne peut pas porter des Algues épiphytes très développées.

Sur la lame du *L. Cloustonii*, comme sur celle du *L. flexicaulis*, les épiphytes occupent presque toujours l'extrémité âgée plus ou moins désorganisée. Même de jeunes *L. Cloustonii* de quelques décimètres peuvent être bordés ainsi dans le bout des frondes par une frange d'algues étrangères (*Acrochœtium*, *Antithamnionella sarniensis*, etc.). Presque toujours la zone stipo-frondale et les régions saines de la lame sont indemnes d'épiphytes, mais il arrive qu'une colonie de Bryozoaire (*Membranipora*) s'installe sur la zone stipo-frondale et dans ce cas le papier amidonné placé au contact n'accuse aucune émission d'iode au-dessus de la colonie, tandis que les portions de tissu voisines non recouvertes sont actives. Nous n'avons pas cherché à savoir si les *Membranipora* interceptaient l'iode dégagé ou bien sup-

primaient par leur présence, comme il est plus probable l'activité iodogène du tissu sous-jacent.

Au printemps, sur nos côtes, le *L. Cloustonii* renouvelle sa fronde et détache la portion âgée de sa lame. Cette partie qui se libère en mars et avril, présente encore à sa base un peu d'iodovolatilisation au moment où elle est libérée.

3° L. Lejolisii. — Cette espèce vit plus profondément que les précédentes et nous avons surtout observé des exemplaires recueillis à la faux par des profondeurs de deux mètres environ au voisinage de Bloscon près de Roscoff. Ces exemplaires recueillis ainsi à la fin de septembre présentaient à l'instant de leur récolte de l'iodovolatilisation sur toute la longueur du stipe, qui est lisse et dépourvu d'épiphytes, sur la région stipo-frondale et sur la base de la lame. La fronde, à cette époque, sur presque tous les exemplaires, était de faible longueur, blanchâtre, terminée par des lanières en mauvais état, couvertes d'épiphytes. Il semble donc que l'automne soit une période de croissance arrêtée pendant laquelle les parties anciennes des frondes sont graduellement éliminées.

Ces *L. Lejolisii* transportés dans un aquarium de la Station biologique ont continué à volatiliser de l'iode durant quelques jours.

A marée basse, nous n'avons pu récolter à la main qu'un seul échantillon de *L. Lejolisii*, près de Ti Sao Son : c'était un pied de petite taille à lame courte blanchâtre dont l'activité iodogène était facile à constater au niveau de toutes les parties du thalle.

II

L'ASSISE IODOGÈNE

Chez les Laminaires le thalle est limité à l'extérieur par une assise de petite cellules très pigmentées qui se cloisonnent activement et jouent un rôle important dans la production de nouveaux tissus. C'est une assise que beaucoup d'auteurs désignent sous le nom d'épiderme à cause de sa situation périphérique, cependant elle a des propriétés particulières et Sauvageau lui applique le nom de *méristoderme* qui fait allusion à son rôle dans l'édification de la structure (1).

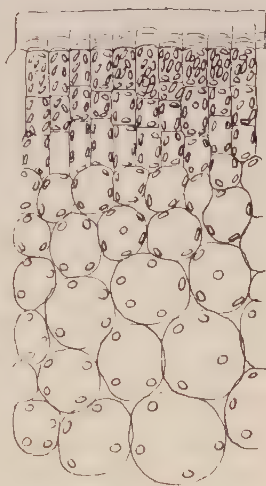


Fig. 3. — Portion d'une coupe dans le tissu cortical périphérique d'un stipe frais de *L. flexicaulis*. Gr. : 500.

Les cellules du méristoderme sont vraiment très remarquables : en se cloisonnant dans le sens tangentiel elles détachent à leur base des cellules nouvelles qui, une fois parvenues en profondeur, deviennent vacuolaires et se modifient pour prendre les différents caractères des cellules profondes de la lame ou du stipe ; les cloisonnements du méristème qui sont perpendiculaires au plan de la fronde contribuent à l'extension du thalle en largeur (fig. 3, p. 151).

Un certain nombre d'expériences montrent d'autre part

1. Sauvageau C., Recherches sur les Laminaires des côtes de France (*Mém. de l'Acad. des Sc. Paris*, 1918).

que le méristoderme joue un rôle actif dans l'iodovolatilisation ; aussi cette assise cellulaire peut être qualifiée *d'assise iodogène.*

Lorsqu'on pratique sur une Laminaire en place, très active, une coupe tangentielle sur une région quelconque du stipe, de façon à enlever sur une petite étendue le méristoderme avec les cellules sous-jacentes, il est facile de s'assurer que l'on détermine de cette façon une petite région absolument inactive ensuite dans l'iodovolatilisation : un papier sensible placé au contact du stipe en question bleuit partout sauf en regard de la petite zone découpée avec le rasoir. D'autre part la petite portion de tissu enlevée par la coupe, si elle est placée en contact du papier sensible par sa face extérieure détermine rapidement une tache bleue tandis que si elle est placée en sens inverse, c'est-à-dire avec les cellules corticales internes en contact du réactif, il ne se produit jamais aucune coloration, par conséquent jamais aucune sortie d'iode. Il en est de même d'un fragment quelconque de tissu de la profondeur et venant d'être détaché d'un stipe frais de Laminaire, et qui ne colore jamais en bleu le papier amidonné sur lequel on le place. Pour qu'il y ait coloration, il est nécessaire qu'une portion de l'assise corticale périphérique soit représentée et que cette dernière soit placée en contact du papier.

Au moyen de coupes tangentielles il est difficile d'enlever seulement l'assise de méristoderme à la surface d'un stipe de *Laminaria flexicaulis*, parce que cette assise a tout au plus quelques μ d'épaisseur. Néanmoins les expériences précédentes établissent déjà suffisamment le rôle de ces cellules dans l'émission d'iode à l'extérieur. Des coupes transversales du stipe de *L. flexicaulis* pratiquées sur des algues fraîches sont encore plus démonstratives. Des coupes épaisses ou des coupes très minces obtenues avec le rasoir donnent les mêmes résultats : lorsqu'une de leur face plane est maintenue au contact d'un papier amidonné, il ne se produit

jamais qu'une figure circulaire dessinant le pourtour extérieur de la coupe et colorée en bleu par suite d'une émission d'iode qui s'est produite exclusivement dans la région périphérique. Il ne se produit jamais aucun dégagement d'iode libre en regard des cellules profondes dont les unes sont coupées par le rasoir, les autres plus ou moins intactes. On peut répéter cette expérience en n'importe quelle région du stipe,au niveau d'un crampon ou sur n'importe quel point de la lame : le résultat indique toujours l'absence d'émission d'iode en face des tissus profonds. Ces cellules profondes, même lésées par une coupe, même mises au contact de l'air par un traumatisme se révèlent donc incapables de volatiliser de l'iode libre et il serait d'autre part impossible d'admettre que ces cellules de profondeur puissent en dehors des blessures, sur l'algue normale, produire de l'iode libre qui ne pourrait atteindre la périphérie du thalle qu'après avoir traversé de nombreuses couches cellulaires. Cette supposition d'ailleurs est incompatible avec les résultats des expériences précédentes.

Les coupes transversales de stipes frais de *L. flexicaulis* produisent donc une émission d'iode localisée à leur périphérie et, au moyen du microscope, on peut localiser cette émission d'une façon très précise : dans une goutte d'eau de mer on répand une certaine quantité de grains d'amidon, de façon à obtenir une sorte de suspension homogène et l'on y place une coupe transversale mince du stipe de *L. flexicaulis* ; on recouvre d'une lamelle aussitôt, en prenant soin d'éviter l'écrasement de la coupe en interposant un petit fragment de papier plié en deux par exemple. La préparation placée sur la platine du microscope est examinée de temps à autre ; bientôt on s'aperçoit que certains grains d'amidon, les plus proches du méristoderme commencent à bleuir, et au bout de quelque temps ces grains, surtout ceux qui sont au contact de la membrane extérieure limitant la coupe, sont devenus fortement bleus. La coloration progresse d'ailleurs peu à

peu et s'étend à des grains d'amidon de plus en plus éloignés, mais toujours à l'extérieur de la coupe. Ce fait résulte évidemment de la diffusion progressive de l'iode dégagé à une certaine distance de la coupe.

Il ne se produit, même à la longue, aucune coloration des grains d'amidon qui se trouvent en contact avec les cellules profondes, soit au-dessus, soit au-dessous de la coupe. On peut se demander pourquoi l'iode produit à l'extérieur de la coupe au niveau du méristoderme ne diffuse pas à la longue dans la région interne, mais on peut remarquer que la coupe pressée entre lame et lamelle empêche cette migration dans une certaine mesure.

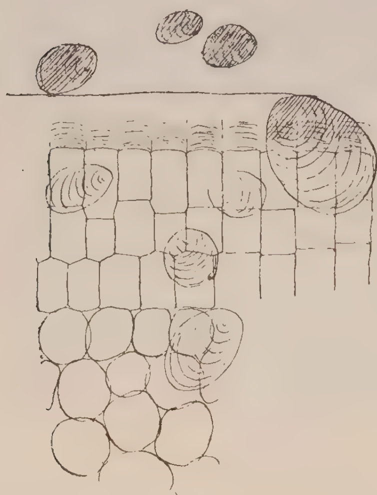


Fig. 4. — Expérience montrant l'émission d'iode au niveau de la membrane extérieure des cellules épidermiques (assise iodogène). Un gros grain d'amidon placé au-dessus de l'assise iodogène se colore en bleu dans la région superposée à la cuticule ; les grains extérieurs à la coupe se colorent également.

Il arrive que certains grains d'amidon assez gros se trouvent par hasard chevaucher l'assise iodogène. Dans ce cas la partie du grain qui se trouve à l'extérieur de la coupe bleuit fortement et la coloration se produit aussi mais plus facilement au niveau de la membrane épaisse qui limite l'épiderme, mais nous n'avons pas vu la coloration se faire sur la partie du grain placée au-dessus du corps cellulaire des cellules épidermiques, ni *a fortiori* plus profondément (fig. 4, p. 154).

Il faut admettre soit que l'iode libre imprègne déjà la membrane extérieure avant de se dégager au dehors, soit qu'une certaine diffusion se produit vers l'intérieur sur les

bords de la coupe. Il est plus probable que l'iode existe réellement à l'état d'élément dans l'épaisse membrane des cellules iodogènes, où il s'accumule peu à peu, étant produit par le protoplasme sous-jacent.

Cette idée est en accord avec le résultat des expériences faites précédemment au moyen de benzine qui entraîne de l'iode par lavage d'une surface de Laminaire fraîche. Cette membrane a sans doute la propriété de retenir une certaine quantité d'iode libre, adsorbée au contact des micelles et l'iode est émis à l'extérieur lorsque la membrane est saturée.

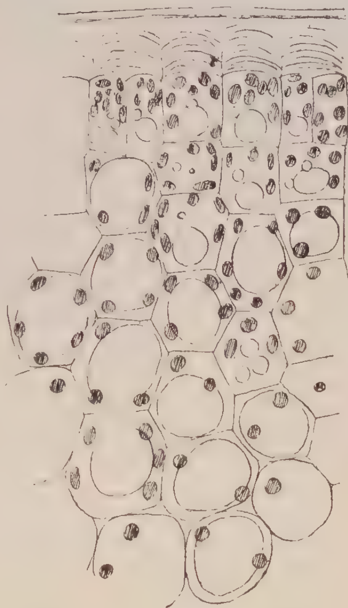


Fig. 5. — Cellules périphériques corticales du stipe de *L. flexicaulis*. A l'intérieur des cellules sont figurés les plastes (gris) les grains de fucosane et les vacuoles.

Le rôle de l'épiderme comme assise iodogène est certainement établi avec beaucoup de précision par ces diverses expériences. L'examen histologique et cytologique de cette assise peut-il nous renseigner sur le mécanisme de l'iodovolatilisation ? Les coupes fraîches très minces de la région corticale d'un stipe de *L. flexicaulis* montrent que les petites cellules épidermiques sont très riches en phéoplastes ; l'iodogénèse est sans doute en relation étroite avec les autres activités de ces cellules, telles que l'assimilation chlorophyllienne, la respiration, l'absorption des éléments de l'eau de mer. Les méthodes histologiques ne sont guère en mesure de nous renseigner sur ces divers procédés physiologiques ; ce qui paraît le plus remarquable, c'est l'épaisse membrane limitante

extérieure qui doit jouer un rôle important (fig. 5, p. 155).

Ce que l'examen cytologique « *in vivo* » des cellules iodogènes montre avec évidence c'est qu'il n'existe pas de réservoirs d'iode, assimilables à des ioduques (1), soit dans l'intérieur du protoplasme, soit dans la membrane. C'est ce qui résulte également de l'examen des préparations montrant l'assise iodogène vue de face : on se rend compte que toutes les cellules sont à peu près équivalentes et qu'il n'existe pas de cellules particulières comparables à des ioduques. D'ailleurs l'existence de cellules spécialisées dans l'iodogénèse ne s'accorderait guère avec les expériences montrant que l'émission d'iode est répartie uniformément sur toute l'étendue des frondes et que cette émission est intense.

Le rôle de l'assise iodogène est mis en relief d'autre part dans une série d'expériences sur les facteurs qui altèrent les cellules et modifient l'iodovolatilisation.

1° Influence des traumatismes.

Lorsqu'on découpe au moyen de deux sections transversales un fragment cylindrique du stipe d'un *L. flexicaulis* frais et qu'on laisse reposer le tronçon ainsi obtenu sur un papier amidonné, on obtient rapidement une ligne bleue correspondant à la génératrice du cylindre en contact avec le papier. Aux extrémités cependant, au voisinage des deux sections, on observe une émission d'iode plus importante qui se fait sentir au bord même des blessures qui sont ainsi soulignées par une teinte bleue plus accentuée (fig. 6, p. 157).

Si l'expérience est faite sur un stipe de Laminaire pris sur une algue en place, à forte activité iodogène, le renforcement d'émission au voisinage des sections peut n'être pas

1. Les ioduques sont des éléments qui ont été décrits comme des réservoirs d'iode libre chez quelques Floridées, mais dont la nature véritable prête encore à discussion (voir, à la 2e partie, l'iodovolatilisation chez les Floridées).

manifeste, parce que toute la surface du stipe présente une activité intense et que le renforcement, s'il a lieu, passe inaperçu. Mais si l'on coupe une algue recueillie depuis quelque temps et devenue faiblement active spontanément, l'effet d'une section est alors extrêmement net. Pour rendre frappante l'influence des traumatismes sur l'iodovolatilisation il est donc utile de choisir une Laminaire récoltée depuis quelques heures et qui a cessé d'émettre de l'iode activement.

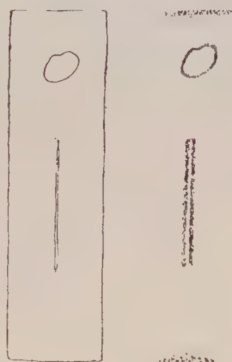


Fig. 6. — Un tronçon du stipe cylindrique de *L. flexicaulis* sur lequel on a pratiqué une strie longitudinale entamant l'écorce et enlevé par une coupe tangentielle un lambeau du tissu cortical ; à droite les figures de coloration obtenues sur un papier amidonné.

Lorsqu'on a fait choix d'une Laminaire qui se trouve dans cette condition (et c'est le cas de toutes les Laminaires récoltées depuis quelque temps et encore vivantes), toutes les coupures du stipe, de la fronde ou des crampons provoquent dans leur voisinage une émission d'iode importante et immédiate. Il est nécessaire d'analyser de plus près ce qui se passe alors.

Pratiquons une coupe tangentielle du stipe et enlevons l'assise iodogène avec un peu de tissu cortical sous-jacent sur une petite portion de la surface. La région ainsi dénudée placée sur papier amidonné ne montre aucune émission d'iode, mais le bord de la blessure s'indique très nettement par une ligne bleue très accentuée. D'un autre côté, le fragment d'écorce enlevé placé sur papier, l'assise iodogène en dessous, s'entoure d'une bande colorée en bleu (fig. 6, p. 157).

Dans les expériences décrites au paragraphe précédent sur des coupes transversales placées sur papier ou sur lame porte-objet dans une goutte d'eau de mer en présence d'amidon, il est certain que l'excitation spéciale due au voisinage

d'une coupure agit et vient renforcer l'iodovolatilisation spontanée, mais il est non moins évident que la blessure n'a pas créé un phénomène nouveau. En effet elle ne détermine pas l'émission d'iode au niveau des cellules coupées des tissus profonds, mais seulement en regard des cellules épidermiques.

Il reste à examiner si l'action des blessures s'applique aux cellules mortes et aux cellules plus ou moins endommagées qui bordent la coupure, ou bien si elle se propage suffisamment loin pour intéresser les cellules incontestablement saines sur lesquelles le traumatisme n'a pas agi directement.

Ces questions sont très délicates, car la nature et l'étendue de l'ébranlement au voisinage d'une blessure sont difficiles à définir. L'expérience montre que l'émission plus forte est localisée étroitement au bord même de la coupure, sur un demi millimètre de largeur tout au plus (1). Il n'y a donc aucunement transmission de l'excitation à grande distance et la région intéressée, vue sa faible largeur, correspond dans ce cas aux cellules qui ont pu être, sinon directement touchées, du moins directement ébranlées par le traumatisme. A quoi tient cette action des blessures ? l'acier de l'instrument employé ne joue pas de rôle, car les mêmes résultats peuvent être obtenus en coupant ou rayant le thalle avec un éclat de verre par exemple, comme nous l'avons constaté maintes fois ; il reste à envisager soit le rôle direct de l'oxygène de l'air qui n'est pas très probable en tant que facteur unique (2), soit une action cellulaire interne provoquée. A notre avis l'émission d'iode au voisinage des blessures constitue une réponse des cellules iodogènes à une

1. Il y a des cas où l'excitation traumatique paraît se transmettre à quelques millimètres de distance, mais il faudrait faire une étude approfondie de la question pour décider s'il n'y a pas eu diffusion à partir de la région émettrice.

2. Une coupure faite sous l'eau et maintenue dans ces conditions au contact d'un papier réactif a donné parfois un résultat aussi net qu'une coupure faite dans l'air ; cependant des coupures ou des rayures faites sur une Laminaire maintenue dans l'eau de mer privée d'air par ébullition n'ont pas donné lieu à émission renforcée suffisamment caractéristique.

excitation et, elle est le fait de cellules vivantes suivant un mécanisme analogue à celui de la volatilisation normale.

L'action des coupures du thalle étant localisée et ne se propageant nullement au loin, il n'est pas justifié que l'exposé de nos recherches ait conduit M. Freundler à considérer l'iodovolatilisation toute entière comme un phénomène dû à des traumatismes par sectionnement ou compression [13]. En ce qui concerne la compression nous avons dit plus haut ce qu'il fallait en penser et comment on pouvait, non seulement éviter toute pression mais même éviter tout contact avec les algues en expérience et constater cependant l'émission d'iode et, quant aux traumatismes, nous venons de voir que leur rôle est essentiellement local.

En restreignant ainsi, selon les données de l'expérience, le rôle des traumatismes à une influence locale sur le tissu iodogène, nous montrons en même temps que l'iodovolatilisation n'est nullement, comme l'a écrit M. Freundler, presque toujours la *manifestation externe* d'un phénomène de rupture d'équilibre à la suite d'un traumatisme [13].

En réalité l'iodovolatilisation est bien un phénomène normal de la vie de l'algue émergée ou immergée, en dehors des lésions et des traumatismes et il y a donc bien là comme le prévoit très justement M. Freundler « un fait absolument nouveau et très gros de conséquences » [13, p. 1126].

A propos des blessures et de leur influence il faut signaler ce qui se passe dans le cas de coupures superficielles déterminant une strie à la surface du thalle. Dans ce cas, réalisé facilement sur la fronde ou sur le stipe de *L. flexicaulis*, la strie est indiquée sur le papier sensible mis en contact avec la région striée, par deux traits bleus séparés l'un de l'autre par un espace clair (fig. 6, p. 157). L'espace clair correspond à la région étroite où la pointe du scalpel a détruit les cellules iodogènes, tandis que les deux traits bleus représentent

les deux bords de la blessure où l'émission d'iode a été renforcée (1).

En dehors des traumatismes d'autres facteurs d'altération agissent dans le même sens et nous passerons en revue successivement l'action des anesthésiques, celle des fixateurs du protoplasme, celle de la chaleur, enfin l'effet de la nécrose spontanée.

2° Anesthésiques.

Les expériences ont porté sur des fragments de stipes de *L. flexicaulis* traités pendant quelques secondes par les vapeurs de chloroforme ou d'éther. Les résultats obtenus sont d'ailleurs à peu près équivalents que l'on se serve de l'un ou de l'autre de ces anesthésiques.

Le chloroforme a été employé de préférence et nous l'avons fait agir de la façon suivante :

Dans un tube à essai ordinaire on verse quelques gouttes de chloroforme et aussitôt après on introduit dans ce tube un fragment du stipe de *L. flexiculis* qu'on vient de couper sur une algue fraîche. Le morceau du stipe doit être suffisamment long pour qu'on puisse le maintenir par son extrémité libre en dehors du tube pendant la durée de l'expérience en évitant qu'il prenne contact avec le chloroforme liquide placé au fond du tube (fig. 7, p. 161).

Il est probable que de cette façon l'extrémité du tronçon de stipe se trouve placée dans une atmosphère de chloroforme à peu près pur, tandis que, vers la sortie du tube, il peut y avoir plus ou moins mélange de chloroforme et d'air.

Les effets du chloroforme diffèrent suivant la durée de

1. Une strie très fine, telle qu'on l'obtient avec la pointe d'une aiguille à cataracte, détermine sur le papier sensible deux traits bleus n'ayant chacun pas plus d'un quart de millimètre de largeur. On peut dessiner une lettre sur la fronde d'une Laminaire, avec une pointe qui entame l'épiderme, et la faire reproduire en double trait bleu sur le papier sensible.

son action ; nous considérerons en premier lieu le cas d'un stipe frais de *L. flexicaulis* qui vient d'être détaché d'une algue en place très active dans l'iodovolatilisation. La surface du stipe est rapidement essuyée au préalable avant l'expérience.

Dans ces conditions on voit apparaître rapidement sur la partie du stipe plongée dans le tube à essai de nombreuses petites gouttelettes qui deviennent de plus en plus visibles. Lorsque le stipe est retiré du tube au bout d'une minute on constate que sa surface est devenue visqueuse. Placé sur papier sensible aussitôt, il ne donne lieu à aucune coloration, même si le contact est prolongé, dans toute la région où le chloroforme a pu agir. Partout ailleurs l'iodovolatilisation se produit activement.



Fig. 7. — Disposition d'une expérience sur l'action des vapeurs de chloroforme sur un stipe de *L. flexicaulis*.

La modification due au chloroforme se montre durable : après une attente prolongée, même si le stipe chloroformé est lavé à l'eau de mer, on n'observe aucune trace de réveil de l'activité iodogène : une coupe dans la région traitée, placée sur papier sensible, ne se colore pas en bleu sur son pourtour comme cela aurait lieu sur une algue fraîche. Pour toutes ces raisons on doit admettre que l'assise épidermique a été tuée ou gravement lésée par l'exposition aux vapeurs de chloroforme.

Une durée d'une minute de séjour dans le chloroforme n'est d'ailleurs nullement nécessaire pour obtenir le résultat précédent : dans d'autres essais nous avons remarqué qu'il suffisait de dix secondes d'exposition pour que l'émission d'iode soit arrêtée d'une façon permanente : le stipe se montre ensuite sans aucune action sur un papier réactif avec lequel on le met en contact aussitôt et la suite des essais

montre que ce résultat est acquis définitivement. L'action d'une blessure demeure sans efficacité sur un stipe ainsi chloroformé.

Il est donc établi que l'assise iodogène est extrêmement sensible à l'action du chloroforme, et qu'il suffit d'un contact très court (dix secondes environ) pour supprimer complètement et définitivement l'iodovolatilisation.

Si maintenant on diminue la durée de la chloroformisation à partir de la dose mortelle, on observe à un moment donné que l'émission d'iode n'est plus supprimée : ainsi pour un séjour de quatre ou cinq secondes dans le chloroforme, toujours dans les mêmes conditions d'expérience, le stipe de Laminaire placé sur papier amidonné produit rapidement une coloration bleue ; bien plus on s'aperçoit que la colora- bleue se fait plus rapidement pour la partie chloroformée que pour le reste du stipe. Le chloroforme, à faible dose, a donc produit une excitation spéciale des cellules iodogènes qui se traduit par une émission d'iode plus abondante (1).

Cet effet du chloroforme est encore plus net si, au lieu d'opérer sur un stipe de Laminaire fraîche déjà très actif avant l'expérience, on prend comme sujet le stipe d'une algue recueillie depuis plusieurs heures et dont l'iodovolatilisation est très faible ou pratiquement nulle : dans ce cas, seule la région chloroformée dégage de l'iode rapidement après l'expérience. Cependant l'expérience ne réussit plus avec une Laminaire recueillie depuis plusieurs jours et dont l'assise iodogène a perdu sa vitalité.

Nous n'avons pas cherché à savoir si l'excitation spéciale due à une faible dose de chloroforme se prolongeait durant un certain temps et si, après une certaine période de repos, il était possible de l'obtenir à nouveau. Nous n'avons

1. On pourrait expliquer les faits autrement en supposant que l'action du chloroforme suspend l'émission d'iode, et que le fort dégagement observé ensuite correspond à une simple reprise de l'activité iodogène momentanément arrêtée ; cette explication est très improbable comme le montre la suite de l'exposé.

pas non plus recherché si le dégagement d'iode obtenu de cette façon s'accompagnait d'une désorganisation plus ou moins complète des cellules ou peut être de leur mort. Dans ce dernier cas il faudrait considérer le dégagement d'iode obtenu comme le dernier acte de la vitalité de ces cellules. Nous sommes d'avis, dans tous les cas, que le chloroforme à faible dose agit comme un excitant physiologique du protoplasme dont l'activité stimulée aboutit à une plus forte volatilisation d'iode que dans les conditions normales.

L'éther a servi aux mêmes expériences que le chloroforme et dans les mêmes conditions. Il a produit à peu près exactement les mêmes effets ; les *doses excitantes* et les *doses mortelles* ont sensiblement la même valeur pour l'éther que pour le chloroforme.

Il est bon d'indiquer en terminant ce chapitre sur l'action des anesthésiques qu'il n'a pas été possible de trouver entre les doses excitantes et les doses mortelles une valeur intermédiaire produisant un arrêt momentané de l'iodovolatilisation. Peut-être serait-il possible d'obtenir cette suspension temporaire de l'activité iodogène en faisant agir le chloroforme ou l'éther en mélange avec l'air atmosphérique dans des proportions bien définies, comme l'ont fait Bonnier et Mangin pour séparer l'assimilation chlorophyllienne de la respiration dans des expériences bien connues (1). Il serait en effet plus facile de cette façon, avec de faibles doses, de suspendre, s'il est possible, l'iodovolatilisation comme cela se pratique pour l'assimilation du carbone.

Nous ferons remarquer, à titre de comparaison pouvant intéresser la biologie générale, que nos expériences établissent l'existence d'une dose excitante des anesthésiques pour l'iodovolatilisation, tandis qu'il n'a rien été signalé d'analogue pour l'assimilation chlorophyllienne, à notre connaissance du moins.

1. G. Bonnier et L. Mangin, Recherches sur l'action chlorophyllienne séparée de la respiration (*Ann. Sc. Nat. Bot.*, 7e sér., t. III, 1886).

3° Action des fixateurs du protoplasme.

Il n'est nullement besoin de prouver par l'expérience que des corps très actifs et très pénétrants, comme l'alcool à 95°, les acides forts, le formol à 40 p. 100, tuent rapidement les tissus qu'on y plonge et que, s'il s'agit d'un thalle de Laminaire, c'est l'assise extérieure iodogène qui sera atteinte la première et donc fixée très rapidement. L'expérience montre que ce résultat est obtenu en quelques secondes de contact et qu'ensuite, même après lavage prolongé dans l'eau de mer, ces thalles de Laminaires ne présentent plus d'iodovolatilisation. En un mot l'iodovolatilisation est liée à l'intégrité des cellules iodogènes.

Ces différentes substances à des doses plus faibles agissent bien entendu plus lentement. Elles sont cependant encore relativement très actives à des concentrations faibles.

Ainsi l'expérience suivante a été réalisée au laboratoire de Roscoff : dans un cristallisoir renfermant un litre d'eau de mer on ajoute un centimètre cube d'acide sulfurique concentré et on y laisse tremper durant cinq minutes un stipe de *L. flexicaulis* frais découpé en trois morceaux. L'algue ainsi traitée pâlit rapidement et sa couleur devient jaunâtre, signe certain d'altération. Au bout de cinq minutes l'algue est retirée de la solution et placée dans un cristallisoir rempli d'eau de mer renouvelée par un courant.

Il est facile après un certain temps de lavage de constater que l'algue ne donne plus aucune réaction sur un papier sensible (alors qu'elle était très active avant l'expérience), même au bout de plusieurs minutes ; une rondelle du stipe placée sur papier ne donne aucun résultat, pas plus qu'une coupe tangentielle ; cette Laminaire se comporte donc de telle façon, qu'on doit admettre que l'assise iodogène a été détruite. La même algue placée ensuite vingt-quatre heures dans un courant d'eau de mer ne reprend pas sa vitalité et

demeure toujours incapable de toute iodovolatilisation. Nous sommes d'ailleurs persuadé qu'on pourrait obtenir le même résultat avec une dose d'acide bien plus faible encore. Dans une autre expérience, moins complète que la précédente, nous avons traité un stipe de *L. flexicaulis* durant un quart d'heure par de l'acide acétique à 1 p. 10.000 en dissolution dans l'eau de mer ; après l'expérience le stipe ne produisait plus d'iodovolatilisation et les tissus semblaient mortifiés.

Cependant si les fixateurs du protoplasme suppriment radicalement l'iodovolatilisation lorsqu'on leur laisse détruire l'assise épidermique, il n'en est pas de même si l'action est ménagée, car, dans ce cas, il peut y avoir une action excitante se traduisant par une émission d'iode plus forte. C'est ce qui se produit avec l'alcool fort, les acides concentrés, le formol ; si l'on plonge rapidement dans ces différents réactifs un stipe frais de Laminaire, qu'on le retire aussitôt et qu'on l'essuie soigneusement, on observe qu'il se produit encore un dégagement d'iode dans la partie du stipe traitée de cette façon ; souvent la limite atteinte par le réactif s'indique par une ligne de démarcation près de laquelle l'iodovolatilisation a été particulièrement forte. Il s'agit là d'émission d'iode *ante mortem* comparable sans doute à celle que nous avons signalée à propos des lésions et à propos des anesthésiques. Nous la retrouverons d'ailleurs dans l'étude d'un nouveau facteur, la chaleur.

4° Action des températures élevées.

Dans l'action de la chaleur nous n'avons pas cherché à déterminer dans quelle mesure les diverses températures influaient sur l'iodovolatilisation. Il paraît probable que la température joue ici un rôle important comme pour les autres phénomènes biologiques et qu'il existe par exemple un optimum de température pour l'iodovolatilisation, mais

la méthode que nous employons ne nous permet pas de mesurer, mais seulement d'apprécier très approximativement la valeur de l'iodovolatilisation dans des conditions données. Il sera plus délicat, d'inaugurer des mesures quantitatives et surtout de les appliquer à des Algues qu'on placera exactement dans les mêmes conditions, sauf en ce qui concerne la température.

En attendant nous exposerons les résultats obtenus dans le cas des températures élevées. Nous avons porté des fragments de stipe de *Laminaria flexicaulis* à des températures variant de 35 à 55° en les plaçant dans des tubes à essai remplis d'eau de mer qui avait été chauffée au préalable. Les expériences ont été réalisées le 21 mai sur des thalles de Laminaires récoltées le 18 mai à Quiberon, c'est-à-dire trois jours auparavant. Avant l'expérience on s'est assuré que les tiges de Laminaires en question n'étaient plus spontanément actives d'une façon appréciable, mais qu'une coupe tangentielle mince de l'écorce placée sur papier sensible le colorait immédiatement en bleu, ce qui est un signe de la vitalité de l'assise iodogène, comme nous l'avons vu précédemment.

La marche de l'expérience était la suivante : dans un tube à essai on chauffait quelques centimètres cubes d'eau de mer jusqu'à une température donnée t. Le thermomètre était laissé dans le tube dans lequel on immergeait un tronçon de stipe de Laminaire ayant trois ou quatre centimètres de longueur. Le morceau cylindrique de stipe a une densité supérieure à celle de l'eau de mer et il tombe au fond du tube où son arrivée détermine une diminution de la température qui se manifeste immédiatement à la lecture du thermomètre. A la fin de l'expérience dont on note soigneusement la durée, on inscrit la température θ prise par l'eau du tube en se refroidissant. On peut, avec une certaine approximation, considérer la température moyenne entre t et θ comme la température moyenne à laquelle a été soumise

l'assise iodogène pendant la durée de l'expérience. Le cylindre de Laminaire est retiré du tube à essai rapidement, on éponge l'excès d'eau qui le mouille et on le place en contact avec un papier amidonné.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau suivant :

t	θ	durée du contact	résultat
57°	50°	30 secondes	aucune émission d'I ; les cellules de l'assise iodogène sont tuées.
55°	50°	15 secondes	émission d'I importante.
42°	35°	15 secondes	pas d'émission d'I, mais vitalité conservée.
42°	35°	30 secondes	pas d'émission d'I, mais vitalité conservée.
40°	35°	2 minutes	faible émission, vitalité conservée.

La lecture de ce tableau nous montre qu'une température d'environ 55° agissant pendant 30 secondes supprime complètement l'iodovolatilisation par suite de la désorganisation du méristoderme, mais qu'une température un peu moins élevée et agissant moins longtemps détermine une sorte d'excitation de l'assise iodogène se traduisant par une émission d'iode assez forte. Nous n'avons pas cherché à savoir si cette excitation présente une certaine durée et si elle peut être renouvelée sur le même objet après un certain temps de repos.

A une température moins élevée encore, aux environs de 40°, il ne se produit plus cette sorte d'émission d'iode *ante mortem*, mais la vitalité de l'assise iodogène est conservée, ce qui veut dire que le stipe réagit encore aux blessures après l'expérience. Nous employons en effet toujours comme critérium de la vitalité du méristoderme le fait qu'il donne d'un dégagement d'iode au niveau des coupures. La valeur de ce procédé résulte des diverses expériences exposées précédemment.

Le dernier résultat inscrit sur le tableau montre qu'une température comprise entre 35 et 40° peut agir deux minutes sans tuer l'assise iodogène ; mais il doit se produire un commencement d'altération puisque l'on voit apparaître une légère excitation de l'iodogénèse.

Nécrose spontanée.

Nous désignons sous le nom de nécrose spontanée la désorganisation des tissus qui se produit au bout d'un temps variable, lorsque des Laminaires sont conservées quelques jours sans précautions spéciales. Ce sont les lames qui montrent le plus tôt l'altération en général : on voit apparaître des zones verdâtres plus ou moins étendues et ce changement de teinte est dû à une modification du pigment brun naturel des tissus corticaux par lequel se manifeste à l'œil nu un commencement de décomposition.

Les régions altérées montrent un épiderme profondément désorganisé dont la cuticule se gondole et se ride d'abord, puis finalement se sépare du reste des cellules sous-jacentes sans protection.

Des frondes de *L. flexicaulis*, partiellement en cet état, sont placées au contact d'un papier sensible et maintenues par une légère pression. Au bout d'un certain temps, de quelques heures par exemple, on observe ce qui s'est passé : la fronde de Laminaire est soulevée avec précautions et l'on s'aperçoit que le papier bristol s'est coloré en bleu suivant des lignes irrégulièrement placées qui dessinent des arabesques (fig. 8, p. 169).

Or ces lignes ou ces bandes colorées, soulignent exactement la bordure des zones nécrosées à teinte verdâtre. La région altérée elle-même n'a montré aucune activité iodogène, mais le pourtour de tissu sain qui a conservé sa teinte brune a fortement émis de l'iode libre pendant la durée de l'expérience.

Ainsi la nécrose spontanée agit comme les autres causes d'altération sur l'assise iodogène ; en effet dans les taches de tissu nécrosé l'altération gagne peu à peu en extension aux dépens des cellules périphériques et il existe par conséquent autour de ces régions une bordure de cellules dont la vitalité est vraisemblablement diminuée et sur laquelle se produit une action spéciale ; un rejet d'iode dans le milieu



Fig. 8.— Figures dessinées sur la fronde et le sommet du stipe de *L. flexicaulis*, au pourtour des zones nécrosées, par l'émission d'iode, au contact d'un papier amidonné.

extérieur se produit à ce niveau. Il est possible que la nécrose agisse en déterminant une certaine acidité du suc cellulaire suffisante pour expliquer la mise en liberté de l'iode.

L'ensemble des faits précédents autorise les conclusions suivantes : d'une part l'iodovolatilisation est liée à la vitalité des cellules épidermiques qualifiées de cellules iodogènes ; l'iodovolatilisation est donc, au même titre que l'assimilation chlorophyllienne ou la respiration une fonction vitale qui dépend de l'intégrité des cellules ; d'autre part si le

mécanisme délicat des actions vitales est déréglé et s'il y a rupture de l'équilibre fonctionnel habituel, l'iodovolatilisation subit un renforcement momentané. Ce dernier phénomène intéresse toujours des cellules encore vivantes et il est provoqué par trop de facteurs divers pour qu'on ne lui assigne pas une cause d'origine interne. Il constitue d'après nous, un cas typique de réflexe physiologique en réponse à une excitation.

Il convient d'ajouter que toutes les tentatives effectuées jusqu'ici pour réaliser de l'iodovolatilisation en l'absence des cellules iodogènes vivantes ont échoué. Il est vraisemblable cependant, à en juger par l'histoire de quelques autres phénomènes naturels, qu'on retirera un jour des Laminaires une diastase spéciale agissant dans ce sens sur les iodures (1), à moins que nous ne soyons, comme pour l'assimilation chlorophyllienne, en présence d'un mécanisme plus subtil.

III

LES COMPOSÉS IODÉS DES TISSUS

1° Méthode de recherche.

L'iode rejeté au dehors par les Laminaires doit avoir quelque relation avec l'iode combiné renfermé dans les tissus, c'est pourquoi nous avons cherché à préciser l'état de l'iode et sa répartition dans les différentes régions anatomiques.

Pour mettre en évidence ces composés dans les tissus on dispose de plusieurs méthodes applicables soit aux algues

1. Certains travaux [11] récents sur les enzymes retirées des algues marines ne sont guère en faveur de cette hypothèse. Les oxydases, peroxydases et catalases y seraient absentes, rares ou peu actives, en particulier chez les *Laminaria*.

fraîches, soit aux algues séchées. Les meilleures consistent à traiter une coupe d'un tissu de Laminaire par un réactif oxydant en présence d'amidon, de façon à ce que des traces d'iode dégagé soient reconnues aussitôt par le bleuissement de l'empois [24].

Par exemple avec une coupe de *L. flexicaulis* placée dans l'empois d'amidon et que l'on traite par l'acide sulfurique nitré, on observe un bleuissement intense au voisinage de la coupe ; il y a donc une abondante production d'iode, mais il est impossible de se rendre compte, même d'un façon approximative, avec cette méthode, de la localisation des produits iodés : en effet la réaction s'accompagne d'un dégagement abondant de bulles qui gêne l'observation et lui enlève une grande partie de son intérêt.

Cette méthode ne nous donnant pas satisfaction, pas plus d'ailleurs que celle de Justus qui ne s'applique pas aux Laminaires fraîches, nous avons pensé à modifier la technique en utilisant au lieu d'empois du papier sensible à l'iode tel que le bristol que l'on se procure un peu partout très facilement. Ce perfectionnement, en apparence minime, permet d'inaugurer une méthode originale dont la valeur d'après nous est certaine, surtout dans l'application qu'on en peut faire aux Laminaires.

Le principe en a seulement été exposé très brièvement à l'occasion de précédents travaux, de sorte que le moment est venu de donner des explications plus complètes.

Il est nécessaire de disposer de Laminaires fraîches riches en iode, telles que *L. saccharina*, *L. flexicaulis*, *L. Cloustonii*, *L. Lejolisii*. Un stipe de ces Laminaires est débité à la main en coupes transversales relativement épaisses ; une coupe est placée aussitôt faite dans un mélange oxydant de nitrite de soude à 20 p. 100 et d'acide chlorhydrique ou sulfurique à 5 p. 100. En pratique, comme le mélange en question devient assez rapidement inactif, il est préférable de se servir de deux solutions distinctes placées chacune dans un verre

de montre. Les coupes sont placées successivement dans l'acide, puis dans l'azotite et ces deux passages peuvent être très brefs surtout le dernier ; elles sont débarrassées ensuite de l'excès de liquide sur un buvard ou sur un chiffon, puis

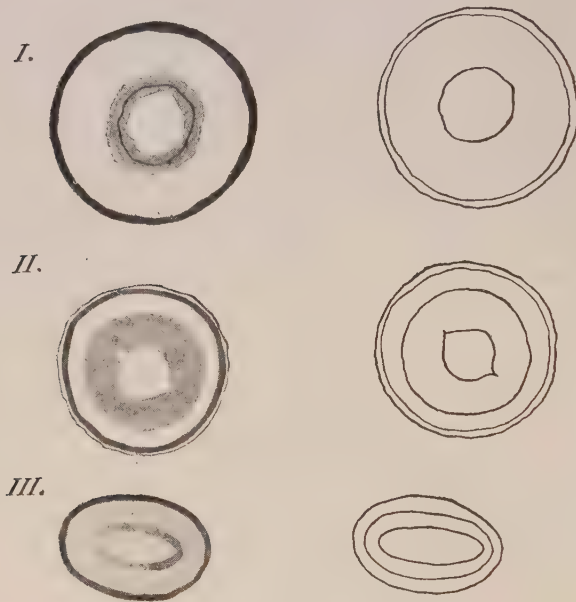


Fig. 9. — Correspondance de la répartition des réserves d'iode et de l'histologie. En I, diagramme obtenu sur une coupe transversale dans le milieu du stipe de *L. Lejolisii* (recueilli à Roscoff en mai, et observé à Paris); la figure de droite est un schéma de la coupe vue à l'œil nu.
II, diagramme obtenu au milieu du stipe de *L. Cloustonii* (recueilli à Roscoff en mai, et observé à Paris) ; à droite, schéma d'une coupe au même niveau vue à l'œil nu.
III, diagramme obtenu dans le haut du stipe de *L. flexicaulis* (recueilli à Wimereux en mai et observé à Paris) ; à droite, schéma d'une coupe au même niveau. (Grand. natur.)

placées sur le papier sensible de façon à ce qu'elles adhèrent par toute leur surface ; ce dernier point est essentiel et, si les coupes ne se collaient pas d'elles-mêmes au papier, il serait nécessaire de les maintenir pendant quelques instants.

Toutes ces manipulations se font très rapidement et ne présentent aucune difficulté. L'expérience montre qu'il vaut

mieux employer du papier bristol non mouillé, de telle sorte que l'humidité nécessaire à la coloration amylique ne soit communiquée au papier que sur l'emplacement de la coupe et par la coupe elle-même : on évite ainsi d'obtenir une coloration diffuse et mal définie.

Après un certain temps, quelques secondes en général,

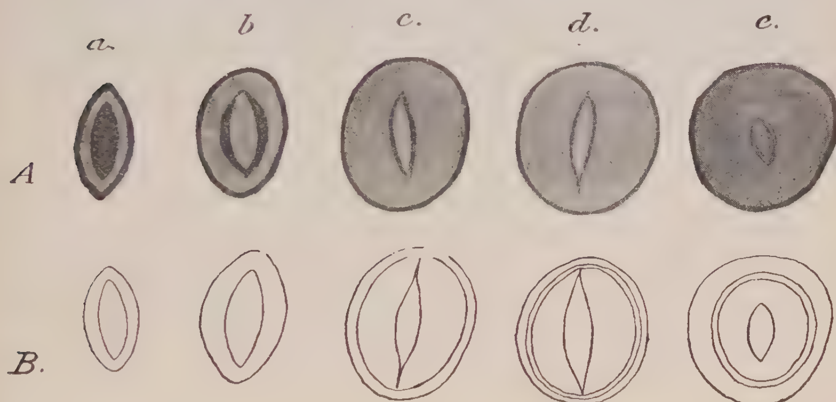


Fig. 10. — Les figures de la ligne horizontale supérieure *A* représentent des diagrammes de répartition de l'iode obtenus à cinq niveaux différents avec l'acide nitré, sur un même stipe de *L. flexicaulis* de 0 m. 40 de long récolté à Roscoff en mars.

a, sommet du stipe; b, sommet du stipe à 10 cm. au-dessous de la lame ; *c*, milieu du stipe ; *d*, base du stipe à 10 cm. au-dessus des crampons ; *e*, base du stipe près des crampons.

Les figures de la ligne inférieure représentent des coupes vues à l'œil nu correspondant aux diagrammes précédents. (3/2 de la grand. natur.)

on remarque en déplaçant la coupe que le dégagement d'iode au niveau de la section a déterminé une coloration bleue sur le papier. Cette coloration d'autre part est en relation directe avec la nature et l'abondance des composés iodés renfermés dans les diverses parties de la coupe et, si une région déterminée du stipe ne contient pas de composés iodés dont l'iode soit déplaçable par le réactif, elle se détache en blanc sur la figure obtenue et la richesse relative en iode des différentes zones du stipe résulte du simple examen de l'image obtenue (fig. 9, p. 172, fig. 10, p. 173).

Sans doute, après un contact prolongé avec le papier, il se produit une certaine diffusion de l'iode, de sorte que les zones colorées en bleu ont tendance à devenir moins nettes, mais ce n'est qu'au bout de plusieurs minutes que ce résultat arrive, alors qu'on obtient un diagramme bien plus rapidement. Une preuve excellente que les résultats obtenus ne sont pas dus au hasard et qu'ils ont une signification précise, c'est que les diverses régions anatomiques des stipes sont indiquées avec une grande netteté et se trouvent décalquées en bleu sur l'empreinte obtenue (fig. 9, p. 172). Par exemple le contour de la moelle est souvent parfaitement tracé, soit parce que la moelle est plus riche en iode que le tissu environnant, soit parce qu'elle est bordée par une zone intermédiaire de richesse plus grande.

Nous pouvons noter dès maintenant que l'iode est réparti d'une manière très inégale dans les tissus et que sa localisation est liée de très près à la différenciation histologique et aux diverses régions anatomiques que l'on peut reconnaître sur les coupes des stipes et des frondes de Laminaires.

Rarement la coloration obtenue se montre homogène sur toute l'étendue de la coupe : lorsque cela se produit cela n'indique pas d'ailleurs forcément que la répartition de l'iode est uniforme, parce que, si l'iode est très abondant, les petites inégalités de répartition sont masquées et peu visibles tout d'abord sur le diagramme obtenu ; dans ce cas les différences apparaissent sur les relevés obtenus au bout d'un certain temps, lorsque le dégagement d'iode à la surface de la coupe est moins intense.

Si notre méthode démontre que l'iode est réparti très inégalement dans les tissus, elle montre aussi que bien peu de régions sont dépourvues totalement d'iode combiné. Avant d'affirmer qu'un tissu ne contient pas d'iode, il est bon de s'assurer que l'iode n'a pas pu se dégager durant la manipulation, car il est certain que malgré la rapidité des opérations, il peut se dégager une certaine quantité d'iode libre, avant

que la coupe ne soit placée sur le papier, parce que l'acide nitré agit pour ainsi dire instantanément.

Si l'on voulait d'ailleurs qu'il n'y ait pas d'iode dégagé en pure perte et non contrôlé, il y aurait moyen sans doute d'employer un papier imprégné d'avance d'une solution de nitrite de soude et desséché ensuite, sur lequel on placerait une coupe traitée par l'acide au préalable. De la sorte le dégagement d'iode n'aurait lieu qu'au moment du contact avec le papier.

Cependant, en pratique, nous ne croyons pas que ce perfectionnement présente un avantage sérieux, du moins pour le but que nous nous sommes proposé, qui n'est pas de recueillir tout l'iode dégagé, mais d'obtenir un croquis en rapport exact avec la répartition de l'iode dans les tissus. Or tous les croquis obtenus, de la même façon, avec un réactif approprié, remplissent évidemment les conditions désirées (1) ; l'épaisseur des coupes, variable, si l'on ne prend pas de précautions spéciales, ne joue aucun rôle au point de vue du résultat obtenu, comme nous l'avons vérifié, mais il est nécessaire que les coupes soient assez épaisses pour que l'émission d'iode soit suffisamment importante et suffisamment durable. La durée d'immersion dans le réactif a une certaine influence ; elle ne modifie pas le figuré des diagrammes, mais elle est la cause d'un dégagement d'iode plus ou moins intense et plus ou moins prolongé.

En somme le succès de la méthode tient à ce que le réactif employé (l'acide nitré) est très actif et très pénétrant et qu'il agit non seulement au moment où les coupes y sont plongées, mais encore après que l'excès du mélange oxydant a été éliminé. Les diagrammes sont obtenus lorsque, la plus grande

1. Il suffira de noter que les régions apparaissant en blanc sur nos diagrammes peuvent ne pas correspondre à une absence totale d'iode, parce que la présence d'une très petite quantité d'iode dans un tissu peut passer inaperçue si l'on ne prend pas de précautions spéciales. En fait il importe assez peu chez les Laminaires de chercher à distinguer entre l'extrême pauvreté en iode d'un tissu et l'absence totale d'iode.

partie du réactif ayant été enlevée, la réaction déclanchée continue à se produire.

Il n'y aurait aucun intérêt à étudier la répartition de l'iode sur des tissus fixés, comme on pourrait être tenté de le faire, car le fixateur, même indifférent vis-à-vis des composés iodés, détermine une égalisation de la distribution de l'iode entre les différents tissus et la répartition devient uniforme ou presque uniforme, en tous cas artificielle. Des stipes de Laminaires fixés au formol ne présentent plus du tout la même distribution de l'iode qu'à l'état frais. La nécrose spontanée des tissus détermine un résultat analogue à la fixation : c'est ainsi qu'elle produit par diffusion le passage des iodures des régions riches aux régions pauvres, de façon à réaliser une répartition sensiblement uniforme à l'intérieur des stipes (fig. 11, p. 176).

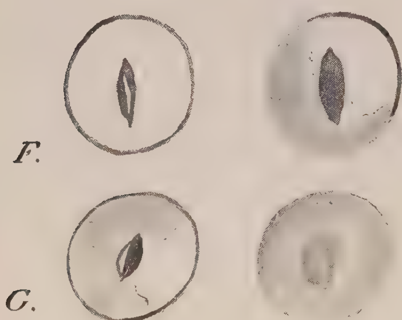


Fig. 11. — Diagrammes de répartition de l'iode obtenus avec l'acide nitré (milieu du stipe de deux *L. flexicaulis F* et *G*).
Les diagrammes de gauche ont été obtenus avant la nécrose; ceux de droite, après la nécrose partielle (*F*) ou totale (*G*).

On sait que l'acide nitré agit sur les iodures d'une façon certaine ; or il semble bien qu'une grande partie de l'iode des tissus de Laminaires, sinon la totalité, se trouve principalement à l'état d'iodures, ainsi qu'il résulte principalement des analyses de Kylin. Il est donc possible de considérer les images obtenues dans notre méthode au moyen de l'acide nitré, comme exprimant au moins pour une part la répartition des iodures dans les tissus. Il reste à savoir cependant si ce réactif doit être considéré comme spécifique des iodures

et dépourvu d'action sur des combinaisons organiques éventuelles présentes dans les tissus (1).

C'est pourquoi il n'est pas inutile de passer en revue quelques autres réactifs et de noter leur action sur le contenu cellulaire iodé des Algues.

L'eau de chlore est d'un emploi facile, mais elle perd son activité rapidement, pénètre mal et n'agit presque toujours que sur les composés périphériques des stipes de Laminaires. Ce résultat est pour l'instant assez difficile à interpréter. Il prouve surtout, d'après nous, que l'eau de chlore ne convient guère à ce genre d'expérience parce qu'elle n'attaque pas suffisamment les cellules vivantes.

L'eau oxygénée peut servir également à déplacer l'iode de ses combinaisons : c'est un réactif à pénétration instantanée, d'action très énergique, qui agit à la façon du mélange nitré en déclanchant une réaction qui se produit en l'absence de l'excès de liqueur. Les images de répartition obtenues avec l'eau oxygénée sont presque toujours superposables à celles que donne le mélange nitré ; il y a lieu de les considérer comme exprimant également la répartition de la plus grande partie des composés iodés des tissus.

L'acide azotique, l'acide chromique peuvent être employés aussi avec succès sur des coupes fraîches de Laminaires. Ces réactifs donnent des résultats comparables aux précédents.

Il pourrait y avoir avantage comme nous l'a suggéré M. Machebœuf à utiliser, au lieu des réactifs précédents, les sels de fer en milieu acide dont l'action plus ménagée s'appliquerait aux iodures seulement. C'est là un point qu'il y aura intérêt à envisager dans l'avenir.

1. D'après Molisch, M. Molliard (*Nutrition de la plante*, Doin, édit. Paris) l'iode ne peut pas être décelé au moyen d'acide nitré, s'il se trouve engagé à l'état de combinaison complexe organique.

2° Répartition des composés iodés dans le stipe des Laminaires (*L. flexicaulis*, *L. Cloustonii*, *L. Lejolisii* obtenue par la méthode des coupes-témoins.

Le réactif employé a été le mélange nitrite de soude à 20 %, acide sulfurique ou chlorhydrique à 5 %. Comme nous l'avons dit plus haut, ce mélange agit certainement sur les iodures, mais il n'a pas été dit qu'il n'agissait pas sur d'autres composés iodés. Son action est certainement efficace sur la plus grande partie des combinaisons iodées des tissus et c'est ce qui fait son intérêt.

Nos expériences se rapportent aux *L. flexicaulis*, *L. Cloustonii* et *L. Lejolisii*. Le *L. saccharina* dont le stipe n'atteint jamais un grand diamètre et présente moins de facilités pour cette étude a été presque complètement laissé de côté.

Elles ont porté autant que possible sur des algues fraîches, utilisées quelques heures après leur récolte, mais, comme il n'est pas toujours très pratique d'excursionner en toute saison dans la zone des Laminaires et d'expérimenter sur place, nous avons tenu compte également des résultats obtenus sur des algues récoltées depuis plusieurs jours par nous-même ou reçues des laboratoires maritimes.

Nous avons vérifié que la répartition des composés iodés ne subissait pas de modifications très importantes chez les algues récoltées en place et conservées vivantes pendant deux ou trois jours. Cela tient à ce que l'iodovolatilisation ne se poursuit très activement que dans les premières heures qui suivent la récolte ; elle produit une diminution plus ou moins sensible de la teneur en iode, mais elle ne modifie pas rapidement l'allure générale de la répartition dans les tissus. Lorsqu'une disparition d'iode devient appréciable, ce sont les composés du tissu intermédiaire qui en font les frais, comme on peut le voir sur la figure 12, p. 179, où sont repré-

sentés les diagrammes de *L. flexicaulis* étudiées à Paris après 3 jours de récolte ; l'iode a disparu partiellement de la région intermédiaire des stipes, sauf à la base près des crampons où l'iode demeure très abondant (fig. 12, D, E, p. 179).

Il suffit d'être averti de ce fait et d'en tenir compte dans

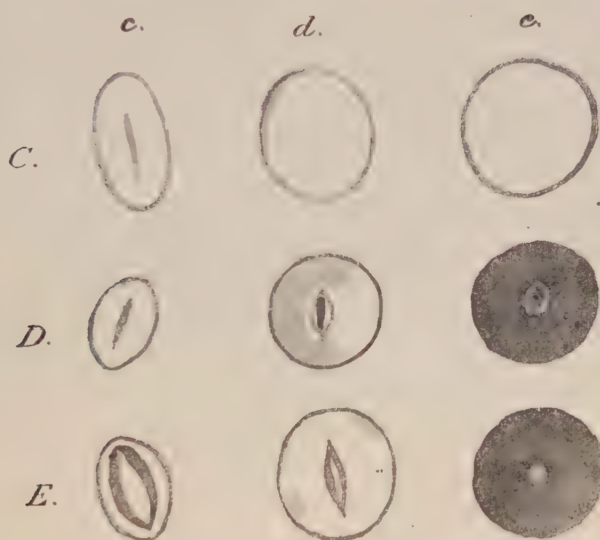


Fig. 12. — Diagrammes de répartition de l'iode obtenus avec l'acide nitré à trois niveaux du stipe de *L. flexicaulis* : *c*, sommet ; *d*, milieu ; *e*, sommet du stipe.

C. L. flexicaulis, épave, recueillie à Wimereux en juin.

D. L. flexicaulis, recueillie en place à Roscoff le 29 mars, observée à Paris le 1er avril.

E. autre pied de *L. flexicaulis*, mêmes conditions (3/2 de la grand. natur.

l'appréciation des résultats. Cela ne concerne guère que les algues conservées au frais et expédiées par colis, car celles que l'on conserve en eau courante après la récolte subissent beaucoup moins de changement.

Bien entendu des pertes d'iode plus considérables se produisent sur certains exemplaires de Laminaires recueillies à l'état d'épaves, qui ne conservent parfois, si elles sont anciennes, que de l'iode périphérique (fig. 12, C, p. 179).

Après ces explications nécessaires, il est juste de dire que l'ensemble de nos expériences a été réalisé presque exclusivement sur place, sur des Laminaires récoltées depuis peu et que, quand il a été dérogé à ce principe, il en a toujours été fait mention.

Chez les *L. flexicaulis* du printemps récoltés soit à Quiberon, soit à Wimereux, les composés iodés sont représentés plus ou moins abondamment dans les trois régions que l'on peut distinguer sur la coupe du stipe, c'est-à-dire dans l'écorce, dans le tissu intermédiaire et dans la moelle ; ils sont surtout abondants dans l'écorce périphérique et sur le pourtour de la moelle, tandis que le tissu intermédiaire et la partie centrale de la moelle sont pauvres (fig. 9, III, p. 172).

Cette disposition se rencontre sur toute la longueur du stipe, mais, à la base, la moelle est à peu près dépourvue d'iode et au sommet des stipes, sur une petite longueur la moelle est pauvre en iode, tandis que l'écorce et le tissu intermédiaire ne forment qu'une seule région très riche (1).

En automne les stipes de *L. flexicaulis* de Roscoff que nous avons pu longuement étudier se sont montrés très pauvres en iode ; en effet les réserves du tissu intermédiaire et celles de la moelle étaient presque complètement inexistantes sur toute la longueur du stipe ; on ne rencontrait plus qu'un anneau périphérique très mince riche en iode ; il persistait toutefois deux régions du stipe encore très riches en iode de profondeur : la base, au voisinage des crampons, où l'iode existait partout sauf dans la moelle et le sommet du stipe où les réserves corticales étaient encore abondantes (pl. XIX, G).

Cette répartition de l'iode dans les tissus est, on le voit, fort différente de celle qui existe chez les algues de printemps. Elle s'applique aux *L. flexicaulis* récoltés en septembre et en octobre à Roscoff et elle doit correspondre à un minimum de la teneur en iode, de courte durée. En effet

1. Dans un cas seulement nous avons rencontré un *L. flexicaulis* dont la base renfermait seulement un étroit liséré périphérique riche en iode.

au cours d'un autre séjour à Roscoff, au début de novembre, nous avons constaté que l'iode médullaire n'était plus absent comme précédemment et, sur des *L. flexicaulis* reçues de Roscoff à la fin de janvier, il y avait de l'iode dans les tissus intermédiaires et dans la moelle ; la même constatation a pu être faite à la fin de mars à Roscoff et l'iode médullaire au moins était toujours présent dans la partie moyenne des stipes (pl. XVII).

L'iode de profondeur dans les stipes (iode du tissu intermédiaire et de la moelle) subit donc des variations importantes au cours de l'année.

Cette disparition de l'iode profond ne se produit pas à la base des stipes ni dans la région qui avoisine la fronde. A la base, là où le stipe s'élargit, il y a toujours beaucoup d'iode, sauf dans la moelle qui est la partie la moins riche (pl. XVII et fig. 10, p. 173) : assez souvent la zone médullaire pauvre en iode présente en son centre une très petite accumulation (pl. XVII, fig. E 5). Cette région de la base des stipes peut aussi présenter des anneaux de plus forte richesse en iode dans le tissu intermédiaire : ces anneaux correspondent à des différenciations histologiques qui se révèlent à l'œil nu comme des cercles concentriques et qui ont été interprétés comme des zones d'accroissement. Il y a à ce sujet beaucoup de variations individuelles (pl. XVII, fig. D 5, fig. G5, fig. A5).

Il y a d'ailleurs des différences assez appréciables entre les pieds de Laminaires que l'on peut recueillir à une même époque de l'année, suivant leur taille et suivant leur âge. Les *L. flexicaulis* à tige tendre de couleur claire sont plus riches en iode que les exemplaires à tige dure et de couleur brun foncé qui sont plus âgés (pl. XVII comparer les fig. D et F).

Chez le *L. Cloustonii* nous n'avons pas de renseignements aussi complets sur la variation au cours de l'année. Nous indiquerons quelle est la répartition des iodures sur un *L. Cloustonii* récolté le 1er octobre à Duon (baie de Morlaix). La lecture des graphiques montre qu'il y a une forte accu-

mulation à la base du stipe, mais que la moelle dans cette région est pauvre en iode ; la partie moyenne du stipe présente à peu près uniquement des réserves périphériques et enfin dans le sommet de la région lisse, dépourvue d'épiphytes, il y a une forte réserve en anneau localisée dans le tissu intermédiaire (pl. XIX, fig. E).

Il y a donc pour le *L. Cloustonii* du début de l'automne une faible richesse en iode sur une grande partie de la longueur du stipe, mais ce n'est certainement pas l'état habituel, car, dès la fin d'octobre, nous avons trouvé de fortes réserves d'iodes de profondeur, dans la partie moyenne des stipes, chez des *L. Cloustonii* récoltés à Duon.

A d'autres moments de l'année nous avons observé une richesse en iode assez forte dans le tissu intermédiaire et dans la partie moyenne des stipes chez cette Laminaire. Il semble donc que les faibles teneurs en iode profond observées en septembre représentent, comme pour le *L. flexicaulis*, un minimum qui est atteint seulement après les fortes dépenses en iode de l'été.

La moelle de *L. Cloustonii* est presque toujours très pauvre en iode ; à la base elle ne représente qu'une zone de dimensions très restreintes, mais plus haut, dans la région moyenne du stipe, la moelle est parfaitement dessinée comme une zone inactive sur les graphiques (fig. 9, II p. 172). Ce n'est qu'au voisinage de la lame que la moelle est riche en iode (pl. XIX, C).

Le *L. Lejolisii* nous a été envoyé de Roscoff au mois de mai. A cette époque la partie moyenne du stipe montrait un anneau cortical de plusieurs millimètres d'épaisseur extrêmement riche en iode, avec une petite accumulation autour de la moelle. Dans le haut du stipe s'observaient deux zones concentriques très riches, l'une corticale, l'autre intermédiaire (fig. 9, I, p. 172).

A la fin de septembre les *L. Lejolisii* recueillis avec la faux à Bloscon ne présentaient plus sur la longueur du stipe qu'un

très mince liseré de moins d'un millimètre d'épaisseur. Au sommet du stipe persistaient cependant les deux cercles d'accumulation décrits plus haut. Ces exemplaires étaient dépourvus de leur base et de leurs crampons, mais le 2 octobre à Ti Sao Son nous avons récolté un *L. Lejolisii*, égaré dans la zone des marées, qui a pu être rapporté entier ; or la base sur une petite hauteur (1 cm. environ) renfermait des réserves d'iode très abondantes dans toute l'étendue de la section transversale. Dans la partie moyenne du stipe existait un simple liseré cortical périphérique d'iodures, tandis qu'au sommet du stipe, sur environ 3 centimètres de longueur, près de la lame, il y avait de fortes réserves dans l'écorce dans le tissu intermédiaire et aussi dans la moelle (pl. XIX, fig. F).

Le 27 février 1929 dans un envoi de la Station biologique de Roscoff se trouvait un exemplaire entier de taille réduite, arrivé en excellent état puisqu'il présentait encore nettement de l'iodovolatilisation spontanée sur diverses régions de la lame et du stipe. Or ce *L. Lejolisii* renfermait de l'iode en abondance à la base du stipe au-dessous des crampons, mais surtout au-dessous du premier verticille d'haptères jeunes en voie de développement. Toute cette région renflée du stipe contenait de l'iode réparti à peu près uniformément et très abondant ; le même fait se manifestait sur une section des haptères. Enfin le sommet du stipe et la base de la lame étaient extrêmement riches en composés iodés. Dans la région moyenne du stipe l'iode de profondeur était peu abondant.

A la fin de mars, à Roscoff, nous avons eu l'occasion de recueillir de grands exemplaires de *L. Lejolisii* coupés à la faux dans le chenal de Bloscon. Ces Laminaires au printemps sont en bel état de végétation et leur lame, plus longue qu'en automne, est beaucoup moins encombrée d'épiphytes ; l'iodovolatilisation est assez faible sur les frondes au sortir de l'eau et elle est très faible sur la plus grande partie des gros stipes.

Les tiges de grande taille dont la longueur dépasse un mètre se distinguent par leur faible teneur en iode (pl. XVIII, fig. D, E) presque partout, mais il y a toujours au voisinage de la lame d'une part et près des crampons d'autre part de fortes accumulations d'iode de profondeur (pl. XVIII).

Sur les petits exemplaires recueillis à marée basse sur les rochers avoisinant la passe de Bloscon, il n'en est pas tout à fait de même et la partie moyenne des stipes est riche en iode médullaire et même en iode intermédiaire (pl. XVIII, fig. A, B, C.).

Chez le *L. Lejolisii* comme chez les espèces précédentes il y a donc disparition dans certains cas de l'iode profond médullaire ou intermédiaire et nous retrouvons d'autre part la persistance de deux zones d'accumulation de l'iode à la base des stipes et au voisinage de la zone stipo-frondale. Cette accumulation est sans doute en relation, dans le premier cas avec le voisinage d'haptères en voie de croissance, dans le second cas avec la zone de prolifération des nouveaux tissus. Quant à la région moyenne des stipes, c'est là un fait général qu'elle est la partie du stipe la moins riche en iode de profondeur et sans doute en iode total à toutes les époques de l'année.

Ces expériences chez trois espèces de Laminaires riches en iode de nos côtes nous montrent combien la répartition de l'iode dans les stipes est complexe puisque elle varie suivant le niveau considéré, suivant la taille et l'âge des algues et suivant la saison. Lorsque les soudiers coupent les Laminaires avec une longue faux emmanchée, ils laissent au fond de l'eau une des régions les plus riches en iode, la base du stipe avec ses crampons.

Il y a lieu de distinguer l'iode cortical périphérique qui réprésente souvent un liseré très étroit mais très concentré, qui ne disparaît jamais complètement, mais diminue seulement en quantité vers la fin de l'été et l'iode de profondeur (tissu intermédiaire ou médullaire), qui correspond à une

véritable réserve s'éliminant à certaines périodes de l'année et qui se reforme ensuite. Un fait remarquable est la répartition de l'iode calquée sur la différenciation histologique, dont les trois espèces de Laminaires étudiées fournissent de nombreux exemples. L'iode est donc réparti d'une manière essentiellement hétérogène dans les tissus vivants.

Un autre emploi de la méthode d'analyse rapide peut être envisagé : on a le moyen en effet de faire agir divers réactifs et de noter leurs différents modes d'action. Il est possible de reconnaître ainsi que les stipes de *L. flexicaulis* contiennent dans les cellules périphériques de l'écorce, des composés iodés faciles à déplacer par un acide, même peu concentré et comme les iodures ne présentent pas ce caractère, nous avons d'abord admis que les cellules corticales périphériques des Laminaires pouvaient contenir des composés iodés plus instables que ceux des tissus profonds. Cette interprétation n'est cependant pas nécessaire, puisqu'il suffirait pour expliquer l'action de l'acide d'admettre l'existence dans certaines cellules corticales de produits oxydants au voisinage de cellules à iodures.

Si l'on coupe un stipe de *L. flexicaulis* recueilli quelques heures auparavant et qui présente l'iodovolatilisation plus ou moins active et qu'on place une coupe transversale de ce stipe sur un papier amidonné, on détermine rapidement sur ce papier une empreinte bleue sous forme d'un liseré étroit délimitant le pourtour de la coupe. Cette ligne bleue circulaire correspond d'après nous à une émission d'iode par l'assise iodogène, c'est-à-dire à de l'iodovolatilisation dont l'activité dans ce cas de traumatisme a été renforcée au voisinage de la lésion.

Traitons maintenant un cylindre du stipe en question par les vapeurs de chloroforme dans un tube à essai pendant trente secondes ou même une minute.

Avec le stipe ainsi chloroformé refaisons l'expérience précédente et plaçons une rondelle mince du stipe sur le papier

amidonné : il ne se produit plus de cercle bleu parce que les cellules de l'assise iodogène ont été tuées ou rendues incapables d'émettre de l'iode par l'action du chloroforme.

D'autre part si une coupe du stipe chloroformé est placée pendant quelques secondes au contact d'un acide assez concentré (acide chlorhydrique à 20 p. 100 par exemple), on obtient un cercle bleu périphérique, rappelant un peu celui qui se produit par iodovolatilisation avec le stipe frais, mais se prolongeant un peu vers l'intérieur (1). Au niveau des tissus profonds il n'y a aucun bleuissement avec l'acide seul, mais, si on ajoute ensuite un peu de nitrite de soude, il se produit aussitôt un fort dégagement d'iode en regard des cellules profondes.

Le tissu cortical périphérique renferme donc de l'iode plus facile à libérer que celui des tissus intermédiaires ou médullaires.

L'action du chloroforme a eu en effet pour résultat d'arrêter l'iodovolatilisation en tuant les cellules, de sorte que le déplacement de l'iode qu'on obtient ensuite par un acide faible est dû, soit à la présence dans l'écorce périphérique d'un composé iodé instable, soit à l'existence simultanée d'iodures et de produits oxydants au voisinage les uns des autres dans le tissu périphérique. Il paraît plus vraisemblable d'admettre la seconde hypothèse, parce que nous savons déjà par d'autres renseignements que l'écorce périphérique des Laminaires est riche en iodures.

Lorsque des stipes de *L. flexicaulis* ont été conservés deux ou trois jours après la récolte sans soins particuliers, il arrive d'ordinaire que ces stipes ne présentent plus d'iodovolatilisation et que les assises corticales périphériques soient mortes, comme on peut le vérifier par une coloration vitale qui ne

1. Ce cercle bleu se produit d'ordinaire rapidement, mais parfois il ne se montre nettement qu'après quelques minutes ; en profondeur il n'y a pas bleuissement après plusieurs minutes sous l'influence d'un acide ; on obtiendrait le même résultat avec une solution d'iodure.

réussit plus dans les cellules extérieures. Dans ces conditions des coupes transversales du stipe placées sur papier amidonné ne donnent plus de cercle bleu et si on traite ces coupes par un acide faible on n'obtient pas non plus d'émission d'iode. Il peut donc y avoir disparition des produits oxydants à la longue chez les Laminaires en voie d'altération, mais le fait n'est pas général et dans certains cas nous avons obtenu une émission d'iode immédiate sur des Laminaires nécrosées par l'action d'un acide seul.

3° Critique de la méthode du bleu de crésyl.

L'exposé précédent de nos recherches sur la répartition des composés iodés chez les Laminaires n'a pas eu besoin d'être précédé d'un compte-rendu historique : nos connaissances sur ce sujet étaient en effet très réduites. On savait depuis Tunmann [30] que dans les stipes de Laminaires l'écorce et la moelle sont les régions les plus riches, mais ce résultat était de peu de valeur, ayant été obtenu sur le produit desséché et non sur la plante fraîche. Si les données étaient aussi rares en cette question, c'est que les méthodes microchimiques en vigueur, préconisées par Molisch [24], Tunmann [30], J. Karrer [16] méthodes excellentes pour la recherche qualitative, ne pouvaient pas fournir une localisation bien précise de l'iode.

Il nous reste à examiner les résultats obtenus par Mangenot [22, 23], dans des travaux récents sur la répartition des iodures chez les Laminaires par la méthode du bleu de crésyl. Ce colorant avait déjà donné des résultats intéressants à Sauvageau [27] dans l'étude des Bonnemaisoniées. Mangenot ayant remarqué qu'une solution de bleu de crésyl réagissait sur une solution d'iodures avec formation de cristaux en aiguilles rouges, propose d'utiliser le bleu de crésyl comme réactif microchimique des iodures. D'après lui, les iodures

seraient représentés seulement dans l'écorce et la moelle des stipes chez le *L. flexicaulis*, parce que ce sont les seules régions où se forment des cristaux rouges dans une coloration vitale au bleu de crésyl [22].

La relation indiquée par Mangenot entre la formation de cristaux rouges avec le bleu de crésyl et la présence d'iodures est intéressante, mais à notre avis et pour des raisons que nous allons exposer, elle donne une idée inexacte de la répartition des iodures chez les Laminaires. Le bleu de crésyl en effet détermine l'apparition de cristaux rouges chez le *L. flexicaulis*, seulement dans les cinq ou six premières assises corticales et dans certaines cellules assez rares de la moelle des stipes et il paraît peu vraisemblable *a priori* que les iodures n'occupent que des régions aussi limitées. (fig. 13, p. 188).

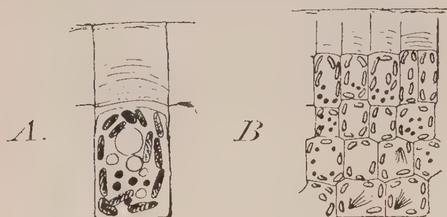


Fig. 13. — A. Cellule épidermique du stipe de *L. flexicaulis* après coloration vitale au bleu de créysl. Dans le protoplasme s'observent des phéoplastes, le contour du noyau, des grains de fucosane et des granules vacuolaires colorés en rouge par le colorant vital.

B. Cellules périphériques corticales du même stipe après coloration vitale au bleu de crésyl, montrant des granules vacuolaires rouges ou des faisceaux d'aiguilles rouges dans certains cas.

La valeur du bleu de crésyl comme réactif microchimique des iodures doit donc être examinée de plus près ; or Chemin dans un travail récent a montré les défauts de ce colorant comme réactif de l'iode et même comme réactif des iodures. Il nous apprend en effet qu'« on peut faire cristalliser le bleu de crésyl sans l'intervention de l'iode par l'évaporation d'une solution dans l'eau de mer, dans de l'eau distillée où l'on a fait dissoudre du chlorure de sodium fondu dans la proportion de 3 p. 100, dans de l'eau de source, dans de l'eau distillée. Les cristaux obtenus sont, en majeure partie, plus longs, floconneux, mais il n'en est de plus petits ayant exac-

tement la forme de ceux qu'on observe chez les algues ; la plupart sont bleuâtres, mais il en est qui sont rouge brique. Ces variations doivent dépendre de la vitesse de cristallisation. » Ce texte nous indique que la simple évaporation d'une solution de bleu de crésyl dans l'eau distillée peut amener la formation de cristaux rouge brique ; or il y a non seulement absence d'iode, mais aussi d'iodures dans ce cas [3].

Les cristaux dont parle Chemin ne sont pas sans doute les mêmes que ceux qui prennent naissance par réaction des iodures sur le bleu de crésyl (1), mais, dans la pratique, quel moyen aura-t-on de ne pas faire la confusion et ne doit-on pas craindre d'attribuer à des iodures la formation d'un précipité cristallin rougeâtre d'origine absolument banale ?

Ceci est une première difficulté. Il y en a d'autres qui tiennent à ce que le bleu de crésyl n'agit sur les iodures que dans certaines conditions. L'attention a été attirée sur ce point par Sauvageau, puis par Chemin qui a indiqué que la cristallisation, à la suite du mélange de bleu de crésyl et d'un iodure ne se produit en milieu liquide qu'avec une concentration en iodure supérieure à 1 p. 100 [3].

Dans une note récente H. Kylin a tenu compte dans une certaine mesure de l'influence de la concentration des solutions à propos de ses expériences chez le *Falkenbergia Hillebrandii*, mais il accorde, à notre avis, trop peu d'importance au fait en lui-même et à ses conséquences [20].

Or il est très important, croyons-nous, d'insister sur ce point que deux solutions, l'une de bleu de crésyl, l'autre d'iodure de potassium dans l'eau distillée, ne réagissent avec formation rapide de cristaux rouges avant toute évaporation que si l'un des deux constituants au moins du mélange se trouve à une forte concentration. Aussi avons-nous cherché à préciser la question, plus qu'on ne l'avait fait jusqu'à

1. Pour notre part nous n'avons jamais obtenu régulièrement, par simple évaporation d'une solution de bleu de crésyl dans l'eau, des cristaux rouges comparables à ceux qui se produisent avec les solutions iodurées.

présent pour en tirer des conclusions relatives à la coloration vitale des Laminaires.

Si l'on fait agir une goutte de solution faible de bleu de crésyl sur une solution diluée d'iodure de potassium, il ne se forme de cristaux rouges que lorsque l'évaporation a commencé à concentrer les deux solutions en présence ; dans le cas contraire et si on évite l'évaporation il ne se forme aucune précipitation, même au bout de plusieurs heures.

Il est donc très probable que, dans les cellules de Laminaires, il ne se forme de cristaux rouges que pour une certaine concentration soit des iodures, soit du colorant au sein des vacuoles et que l'absence de formation des cristaux rouges dans certains tissus des Laminaires peut résulter non de l'absence d'iodures dans ces mêmes tissus, mais d'une concentration insuffisante soit des iodures, soit du colorant.

Nous avons réalisé les essais suivants afin de préciser les concentrations qui sont nécessaires de part et d'autre pour obtenir la formation de cristaux rouges.

Si nous partons d'une solution concentrée de bleu de crésyl obtenue en dissolvant 1 gramme de colorant dans 100 cc. d'eau distillée et que nous faisions agir sur elle diverses solutions d'iodure de potassium dans l'eau distillée, voici ce que nous constatons : deux gouttes des solutions sont placées côte à côte sur une lame, puis mises en communication l'une avec l'autre ; avec des solutions d'iodure à 1 p. 1000 et à 5 p. 1000, il se produit sur-le-champ une coloration vert pâle dans la zone de contact des deux gouttes, mais, même au bout de plusieurs minutes, on ne voit apparaître dans le liquide aucun bouquet cristallin rouge.

Les cristaux ne se montrent qu'au bout de cinq ou dix minutes et en petit nombre, sur la marge du liquide et fixés sur sa limite ; ces cristaux peuvent être rougeâtres, violets ou bleus. Les cristaux bleus et violets en longues aiguilles se trouvent dans la région où le bleu de crésyl est en excès ; au contraire les cristaux rouges en bouquets

cristallins apparaissent du côté de la solution d'iodure.

Si l'on considère avec Kylin que les cristaux rouges résultent d'une réaction des iodures sur le bleu de crésyl, tandis que les cristaux bleu-violets sont des cristaux du colorant seul, on voit donc que la formation de cristaux rouges n'a pas lieu, même en présence d'une solution concentrée de bleu de crésyl, si la solution d'iodure est de l'ordre de 1 p. 1000 ou de 5 p. 1000. En effet les cristaux rouges dans ce cas n'apparaissent qu'au bout d'un certain temps et seulement sur le bord des gouttes, en des points où une certaine concentration se produit sous l'influence du dessèchement. D'autre part les cristaux rouges se produisent plus vite et en plus grande quantité pour la solution à 5 p. 1000 que pour la solution à 1 p. 1000, ce qui met bien en évidence l'influence de la concentration.

Lorsqu'on fait agir au contraire une solution d'iodure au centième ou une solution plus concentrée encore sur la même solution de bleu de crésyl, on observe aussitôt et dans le liquide, dans la zone de contact des deux solutions, l'apparition d'un grand nombre de petits bouquets cristallins rouges. Avec une solution à 10 p. 100, dès la mise en contact, il y a formation brusque de cristaux rouges extrêmement nombreux dûs évidemment à la formation d'un iodure du colorant.

Les expériences précédentes montrent que, même avec une solution concentrée de bleu de crésyl (1 p. 100), l'iodure de potassium ne réagit que s'il se trouve lui-même en solution supérieure ou égale au centième. Par conséquent, lorsque chez une Laminaire nous observons la formation de cristaux rouges immédiatement après coloration vitale, c'est que la teneur des vacuoles en iodure est forte et nous pourrions même déterminer la teneur minima, si nous connaissions la concentration approximative du bleu de crésyl qui a pénétré dans la vacuole (1).

1. Dans une coloration vitale la concentration du bleu de crésyl, faible au début, devient ensuite de plus en plus forte. On peut estimer d'après leur

Si la concentration du bleu de crésyl est moins forte, il faudra employer des solutions plus concentrées d'iodure pour obtenir une réaction. C'est ainsi qu'on peut mélanger deux gouttes, l'une de bleu de crésyl au millième, l'autre d'iodure de potassium au centième, sans voir apparaître aucun cristal rouge. On peut laisser très longtemps de pareilles solutions en présence l'une de l'autre, ou en mélange, sans qu'il se produise aucune précipitation de bouquets cristallins rouges, à la condition d'éviter toute évaporation. Par conséquent si de pareilles solutions se trouvent représentées dans les cellules après coloration vitale, il n'y aura aucune réaction, bien qu'il y ait présence d'iodures en relative abondance dans le suc vacuolaire. De même des solutions de bleu de crésyl à 1 p. 100, ne réagissent pas au bout de plusieurs heures sur des iodures à 1 p. 1000.

Le bleu de crésyl ne peut donc pas servir à déterminer la répartition des cellules à iodures chez une algue. Le fait, signalé par Mangenot, que des cristaux rouges ne se forment avec se colorant que dans les cellules périphériques des stipes de Laminaires et dans certaines cellules de la moelle, montre seulement, à notre avis, que ces cellules contiennent des iodures à l'état de solution concentrée.

Quant aux cellules qui se comportent négativement, comme celles de la zone intermédiaire des stipes, elles ne sont pas forcément dépourvues d'iodures. Mangenot [22] indique d'ailleurs secondairement que les résultats négatifs obtenus avec sa méthode n'ont pas la même valeur que les résultats positifs : c'est tout à fait notre opinion.

Comme nous l'avons dit plus haut, le tissu intermédiaire traité par l'acide nitré dégage de l'iode libre comme le tissu

teinte que des vacuoles colorées normalement contiennent environ 2 % du colorant. Avec cette concentration il suffit que les iodures soient en dissolution à 5 ‰ dans la vacuole pour qu'un précipité rouge se forme aussitôt. Telle est donc sans doute la teneur approximative des vacuoles périphériques en iodures chez le *L. flexicaulis* (teneur minima) si les solutions en présence dans le suc vacuolaire réagissent de la même manière que lorsqu'elles sont en contact « in vitro » dans l'eau distillée.

cortical. D'autre part chez des *L. flexicaulis* recueillis à Reykjavik (Islande) nous avons obtenu la formation de bouquets cristallins rouges dans toutes les cellules du tissu intermédiaire au moyen de coloration vitale au bleu de crésyl. La réaction n'a pas lieu en quelques minutes, comme pour les cellules périphériques, mais au bout de plusieurs heures dans une préparation qui a subi un dessèchement partiel.

Dans ces conditions toutes les cellules du tissu intermédiaire renfermaient dans leurs vacuoles un ou plusieurs bouquets d'aiguilles rouges ; au contraire une préparation semblable qui avait été protégée contre le dessèchement ne montrait pas ces cristaux. Il peut donc y avoir formation de cristaux rouges chez les Laminaires dans les cellules du tissu intermédiaire, lorsque, par dessèchement partiel, on arrive à concentrer suffisamment le suc vacuolaire. L'expécience de Reykjavik a été répétée d'autre part sur des *L. flexicaulis* de Roscoff ; elle montre à nouveau la nécessité d'une certaine concentration en iodure ou en colorant pour obtenir la réaction soi-disant caractéristique des iodures ; elle montre aussi que le tissu intermédiaire n'est pas dépourvu d'iodures, dans certains cas du moins (1).



Fig. 14.— Chaîne de *Thalassiosira decipiens* ; dans deux cellules le bleu de crésyl a déterminé l'apparition de bouquets cristallins rouges dans le suc vacuolaire.

Il y a peut-être encore d'autres conditions qui favorisent ou empêchent la formation de cristaux rouges dans les cellules; en effet il convient de rappeler que Chadefaud [1] a obtenu assez souvent la formation de cristaux en aiguille, mâclés en oursins ou groupés en faisceaux chez diverses algues

1. Des cossettes taillées dans le tissu intermédiaire des stipes de *L. flexicaulis* et traitées par les sels de fer en milieu acide ont dégagé de l'iode. Ces cossettes abandonnent d'autre part dans l'eau douce des iodures reconnaissables par l'azotate d'argent.

marines ; malheureusement la couleur de ces cristaux n'est pas précisée sauf dans le cas de l'*Ulva Enteromorpha* Le Jolis où ils sont violets [1]. Pour notre part nous avons obtenu de très beaux bouquets d'aiguilles rouges dans les vacuoles d'une Diatomée planctonique le *Thalassiosira decipiens* au moyen du bleu de crésyl (fig. 14, p. 193) ; de même chez une Diatomée benthique le *Synedra Gailloni*. Nous ne saurions affirmer que le fait est dû à l'existence d'iodures concentrés chez ces algues : cela est au moins douteux.

Des cristaux rouges se forment aussi fréquemment chez divers *Polysiphonia* (*P. elongata*, *P. urceolata*) dans les trichoblastes, les cellules apicales ou les cellules péricentrales : ce sont des bouquets d'aiguilles qui par leur fréquence devraient indiquer l'existence d'iodures abondants chez ces algues (Fig. 15, e, f, g, p. 195) ; cependant ces *Polysiphonia* ne dégagent pas d'iode lorsqu'on les traite par l'acide nitré.

Chez diverses Ectocarpacées, des cristaux rouges se forment très souvent par coloration vitale au bleu de crésyl, chez les *Ectocarpus* par exemple comme nous l'avons observé [fig. 15, i, p. 195] et comme l'a signalé Mangenot [23]. Chez un *Stictyosiphon* récolté à Roscoff nous avons observé la formation de bouquets cristallins rouges si nombreux dans toutes les cellules, qu'on pourrait supposer que cette Ponctariée est extrêmement riche en iodures ; or une touffe de cette algue traitée par l'acide nitré, ne dégage pas d'iode ; nous n'avons pas recherché s'il y avait des bromures et nous ignorons la raison d'une aussi abondante formation de cristaux rouges chez cette algue (fig. 16, p. 196).

Chez une Phanérogame, le *Gingko biloba* nous avons également obtenu la formation de cristaux rouges dans les cellules de méristème (jeunes feuilles) au moyen de bleu de crésyl, après dessèchement partiel des vacuoles comme dans l'exemple indiqué plus haut.

Une dernière circonstance nous invite à la prudence au sujet de l'emploi du bleu de crésyl comme réactif microchi-



Fig. 15. — Cristaux rouges en oursins observés chez diverses algues après coloration vitale au bleu de crésyl : *e*, point de végétation de *Polysiphonia urceolata*, montrant des grains de précipitation rouges, des cristaux en oursins rouges et, vers la base, des vacuoles violettes non précipitées.

f, cellule péricentrale de *Polysiphonia urceolata* montrant de très nombreux cristaux rouges groupés et des grains de précipitation rouges amorphes.

g, cellule de l'extrémité d'un trichoblaste de *Polysiphonia ,elongata* montrant des précipitations vacuolaires rouges en oursins.

h, coloration vitale au bleu de crésyl chez le *Falkenbergia Doubletii*.

i, cellule d'un *Ectocarpus* colorée au bleu de crésyl et montrant un faisceau d'aiguilles rouges formé dans la vacuole ; on observe en outre des grains de fucosane autour du noyau et dans les travées de proto plasme, des globules gras dans le protoplasme et des pyrénoïdes attaché-aux chromatophores.

mique des iodures, c'est que les solutions de bromures alcalins se comportent à peu près comme les iodures *in vitro* et qu'ils provoquent l'apparition dans une solution de bleu de crésyl de cristaux très difficiles à distinguer de ceux qu'y déterminent les iodures.

Si l'on place quelques cristaux de bromure de potassium dans une goutte d'une solution de bleu de crésyl, on voit se former immédiatement de petits cristaux rouges qui sont

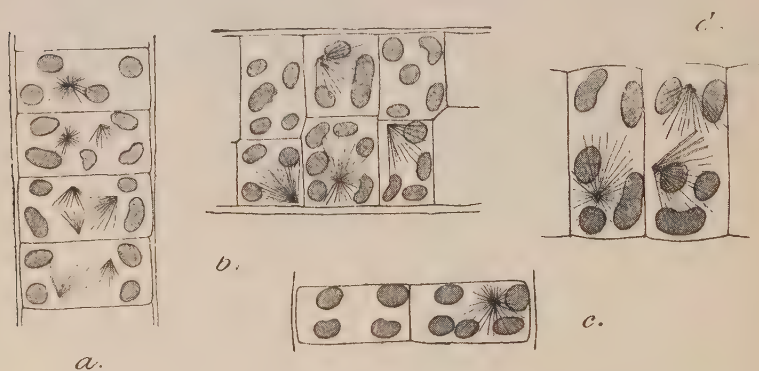


Fig. 16.— Cellules prises en différents points du thalle d'un *Stictyosiphon* après coloration vitale au bleu de crésyl montrant les phéoplastes et des bouquets de cristaux rouges.

exactement comparables à ceux que l'on obtiendrait dans les mêmes conditions avec de l'iodure de potassium (1).

Avec les bromures cependant la nécessité d'une forte concentration des solutions en présence est encore plus certaine qu'avec les iodures et la solution saline doit être au voisinage de la saturation pour que des bouquets cristallins rouges prennent naissance rapidement.

Il s'en forme cependant encore de très beaux avec une solution concentrée de bleu de crésyl à 2 p. 100 et une solution de bromure de potassium à 10 p. 100 ; leur formation

1. Suivant les conditions de leur formation les cristaux rouges résultant d'une combinaison iodée ou bromée du bleu de crésyl sont assez variables, mais il est impossible de faire une distinction entre ces deux catégories.

est presque immédiate. C'est probablement cette condition de concentration qui a fait méconnaître par Kylin l'existence de cristaux résultant d'une combinaison bromée du bleu de crésyl [20].

Les bouquets de cristaux rouges qui se produisent par la réaction d'un bromure sur le bleu de crésyl sont d'autre part analogues à ceux qui se forment par coloration vitale dans les cellules corticales périphériques des stipes de Laminaires. Nous sommes persuadé que, dans ce cas, ce sont les iodures qui agissent, mais, comme les bromures ont été signalés chez les algues marines, il ne faut pas ignorer l'action qu'ils peuvent exercer sur le bleu de crésyl, action qui est du même ordre que celle des iodures.

En résumé le bleu de crésyl n'a qu'une valeur limitée en tant que réactif microchimique des iodures ; en ce qui concerne la répartition des iodures chez les Laminaires il a conduit à une représentation partielle et à des résultats en partie erronés, parce qu'il n'agit pas sur les iodures relativement peu concentrés, ou qu'il n'agit qu'après une concentration artificielle du suc cellulaire. Chez quelques Diatomées, des *Polysiphonia* et des Ectocarpacées, le bleu de crésyl donne de superbes réactions, alors que l'absence d'iodures concentrés est certaine chez la plupart de ces algues. Ces faits sont de nature à faire rechercher d'autres causes que les iodures dans la formation de cristaux rouges avec le bleu de crésyl et d'ailleurs, dans cet ordre d'idée, nous avons montré quelle était l'action des bromures qui réagissent parfaitement sur le bleu de crésyl *in vitro*.

Malgré ces inconvénients et ces incertitudes, le bleu de crésyl demeure un réactif intéressant, par suite de cette double qualité de colorant vital et de réactif chimique. Il permet de localiser chez les Laminaires non les iodures en général, mais les iodures concentrés et il donne le moyen d'obtenir un chiffre approximatif de la teneur en iodures dans les cellules corticales périphériques des Laminaires.

IV

L'IODE EN DEHORS DE LA PLANTE

1° L'IODE DANS L'ATMOSPHÈRE ET DANS L'EAU DE MER.

La sortie d'iode libre soit dans l'atmosphère, soit dans l'eau de mer au voisinage de Laminaires vivantes et en place a été démontré par de nombreuses expériences.

Il semble donc qu'il doit être relativement facile de retrouver l'iode ainsi libéré, soit dans l'air, soit dans l'eau de mer où auraient séjourné des Laminaires en pleine activité iodogène. Quand on y regarde de plus près, on se rend compte que les quantités d'iode ainsi mises en liberté sont d'abord relativement faibles et qu'ensuite elles peuvent se fixer ou se combiner dans des conditions mal connues. Autre chose est donc de prouver la sortie de l'iode dans le milieu extérieur comme nous l'avons fait ou de caractériser l'iode dans ce même milieu où sa quantité demeure toujours très faible.

En ce qui concerne l'atmosphère il serait nécessaire de procéder à des prises d'air au voisinage des champs de Laminaires et de comparer la teneur en iode de ces prises avec celle d'échantillons d'air prélevés dans d'autres conditions. On pourrait agir de même pour l'eau de mer, mais il serait nécessaire de tenir compte du fait que les Laminaires si elles sont capables de rejeter de l'iode libre, sont certainement en mesure d'absorber en contre-partie soit de l'iode combiné, soit même de l'iode libre.

L'iode dégagé dans l'atmosphère ou dans l'eau de mer par les Laminaires vivantes peut cependant être reconnu dans certaines conditions d'expérience que nous allons examiner.

Lorsque des fragments de tiges de *L. flexicaulis* fraîches

sont placées au fond d'un tube à essai, une certaine quantité d'iode libre est bientôt mise en liberté dans l'atmosphère du tube. D'après ce que nous savons cet iode libre est produit d'une part au niveau de l'assise iodogène intacte par une iodovolatilisation spontanée et d'autre part dans une petite région proche des surfaces de section par un phénomène d'iodovolatilisation renforcée. Dans cette expérience l'iode dégagé est en quantité suffisante dans le tube à essai au bout de quelque temps pour colorer fortement en bleu un papier amidonné humide, formant tampon à l'ouverture du tube.

Il est certain que l'action des blessures n'intervient que pour une faible part dans le résultat et que l'iode mis en liberté dans le tube à essai provient en grande majorité de l'iodovatilisation spontanée et normale.

Nous avons cherché à savoir si l'iode dégagé se trouvait en quantité suffisante pour être rassemblé et rendu visible par un dissolvant comme la benzine ou le chloroforme. Pour cela après un séjour d'une durée variable des tiges de Laminaires coupées dans un tube à essai, celles-ci sont retirées du tube avec des pinces ou avec la pointe d'un scalpel; on verse quelques gouttes de benzine dans le tube et on agite fortement à plusieurs reprises. Malgré un grand nombre d'essais de ce genre il n'a jamais été possible de caractériser l'iode dans l'atmosphère du tube de cette façon ; les traces d'iode qui existent certainement en mélange avec l'air sont insuffisantes pour colorer la petite quantité de benzine qui se rassemble au fond du tube. Nous rappelons ces essais avant de décrire les expériences du même genre qui ont été réalisées pour rechercher l'iode dans l'eau de mer au voisinage des Laminaires.

L'iode se trouve déjà dans de l'eau de mer quelconque en faible proportion, puisqu'un litre en renferme d'après les analyses d'A. Gautier [14] un peu plus de 2 mgr. Si cette teneur augmentait légèrement il serait peut-être possible

de déceler l'iode facilement ; dans des essais nombreux nous avons tenté de mettre en évidence soit l'iode libre, soit l'iode combiné sous formes d'iodures, dans de l'eau de mer prélevée dans diverses conditions. Jamais, même dans l'eau de mer des cuvettes de rocher où les Laminaires abondent, il n'a été possible de caractériser soit l'iode libre, soit les iodures.

La méthode employée pour l'iode libre a été celle qui consiste à rassembler par agitation l'iode libre dans un tube à essai avec quelques gouttes de benzine. Cette méthode est assez précise pour révéler des quantités d'iode dissoutes dans la proportion de 1 p. 250.000 environ. Si l'on s'en rapporte à nos essais, une dose aussi forte n'existerait donc jamais dans l'eau de mer naturelle recueillie au voisinage des Laminaires. Ce résultat indique que l'iode libre émis par ces algues diffuse rapidement dans l'eau et il est probable aussi qu'il s'établit un certain équilibre entre la plante et le milieu.

En ce qui concerne les iodures il est facile de les reconnaître en solution à 1 p. 200.000 dans l'eau de mer : il suffit d'agiter une solution iodurée de ce genre dans un tube à essai avec quelques gouttes d'acide nitré ; en ajoutant ensuite quelques gouttes de benzine, on observe facilement la coloration rose du dissolvant qui vient surnager au sommet du tube. Or l'eau de mer naturelle ne donne jamais ce résultat (1).

Nous estimons probable qu'il existe des conditions qui rétablissent l'équilibre de l'iode dans l'eau de mer et assurent une teneur en iode toujours faible. Le brassage du milieu par les vagues et les courants et l'absorption antagoniste d'iode ou d'iodures par les algues sont également à invoquer.

Emission d'iode libre dans l'eau de mer en milieu confiné.

Nous venons de voir que la proportion d'iode de l'eau de mer naturelle, même de celle des cuvettes où les Laminaires

1. Dans la limite de nos expériences bien entendu.

sont abondantes reste toujours très faible. Il était intéressant de rechercher si, dans un espace confiné d'eau de mer ayant séjourné au contact de Laminaires vivantes, on n'observerait pas au bout d'un certain temps une quantité d'iode libre assez importante pour être reconnue qualitativement.

En fait, on n'obtient pas ainsi la plupart du temps de résultat positif, parce que, sans doute, l'iodovolatilisation s'exerçant en milieu confiné est limitée par un phénomène inverse d'absorption.

Dans deux expériences cependant nous avons obtenu le résultat recherché : voici l'un de ces essais. Afin de nous mettre à l'abri des causes d'erreurs qui pourraient résulter du contact des surfaces de section avec l'eau de mer, nous avons utilisé des tubes de verre cylindriques ouverts aux deux bouts ayant environ 2 cm. 5 de diamètre et 10 cm. de longueur environ. Chacune des extrémités du tube peut être fermée par un bouchon perforé de manière à permettre le passage d'un stipe moyen de *L. flexicaulis* (fig. 17, p. 201).



Fig. 17. — Disposition d'une expérience, avec un tube à 2 bouchons et un stipe de *L. flexicaulis*, destinée à montrer l'émission d'iode dans l'eau de mer.

L'expérience est mise en train de la façon suivante : un stipe frais de *L. flexicaulis* pris sur place et dans l'eau, de façon à changer le moins possible les conditions naturelles, est découpé avec un scalpel de façon à obtenir un tronçon cylindrique d'un peu moins de 10 cm. de longueur. L'une des extrémités de ce tronçon est engagée dans un des bouchons, lequel est lui-même ajusté sur le tube de verre ; on ajoute de l'eau de mer prise au voisinage du gisement de l'algue et l'on fixe le deuxième bouchon au sommet du tube dans l'extrémité du stipe. On obtient par conséquent de cette façon la mise en contact d'un thalle intact de Laminaire

avec une quantité limitée d'eau de mer dans des conditions qui se rapprochent autant que possible des conditions normales (fig. 17, p. 201).

L'une des expériences qui a donné un résultat positif a été réalisée sur l'îlot de Duon dans la baie de Morlaix au début d'octobre. Après un séjour d'un quart d'heure au contact d'un stipe de *L. flexicaulis* placé entre deux bouchons, une partie de l'eau de mer a été décantée dans un tube à essai et agitée aussitôt en présence de quelques gouttes de benzine : l'iode libre se rassemble au sommet du tube en dissolution dans la benzine qu'il colore en rose.

On peut déduire de cette expérience qu'il y a eu dégagement d'iode libre dans l'eau et, comme il n'y a pas eu de contact avec des surfaces de section, il s'est bien agi d'iodovolatilisation spontanée. Nous avons obtenu également de l'iode libre facile à caractériser sur un *L. flexicaulis* recueilli aux environs de la Station biologique.

Ces deux expériences ne sont pas les seules que nous ayons faites : chaque fois que nous avons pu nous rendre à marée basse dans la zone des Laminaires, nous avons réalisé deux ou trois essais d'un quart d'heure ou d'une demi-heure avec le même dispositif, en prenant comme sujets d'expérience des algues récoltées dans des conditions diverses, immergées ou émergées. La plupart du temps il n'a pas été possible de caractériser l'iode libre dans l'eau de mer au cours de ces essais.

La cause de l'échec de ces expériences dans la grande majorité des cas n'est pas facile à donner : elle doit provenir de ce que les quantités d'iode rejetées par l'algue sont presque toujours insuffisantes pour être reconnues ainsi et d'autre part l'expérience ne peut pas être prolongée très longtemps, car le manque d'oxygène peut se faire sentir rapidement. Il ne faut pas éliminer non plus la possibilité pour l'algue d'absorber à la fin de l'expérience l'iode dégagé au début, supposition tout à fait vraisemblable comme nous le verrons,

Au lieu d'employer le tube à deux bouchons nous nous sommes servi également de tubes à essais ordinaires. Un tronçon du stipe de *L. flexicaulis*, pris sur place, est placé dans un tube rempli d'eau de mer et laissé un quart d'heure ou une demi-heure en contact. Après l'expérience l'eau de mer est décantée dans un deuxième tube et agitée avec un peu de benzine. Dans aucun cas nous n'avons trouvé d'iode appréciable par ce moyen.

Cependant, soit avant l'expérience, soit après, les stipes de Laminaire bleuissent fortement un papier amidonné sur lequel on les place. Il faudrait savoir si, dans un espace confiné, dans l'eau de mer, l'asphyxie ne se fait pas rapidement sentir amenant avec elle l'arrêt immédiat de l'iodovolatilisation.

La possibilité d'une combinaison rapide de l'iode libre avec les éléments de l'eau de mer doit également retenir l'attention. Il n'est pas douteux que de l'iode émis à l'état très divisé dans l'eau de mer ne soit très apte à entrer en combinaison. Certains faits le montrent : si l'on broie une parcelle d'iode dans un mortier en présence d'une certaine quantité d'eau de mer, on obtient de l'eau de mer iodée où l'iode libre est facile à caractériser ; si cette eau iodée est laissée en contact avec l'air par une large surface, l'iode volatil disparaît bientôt du liquide, mais en revanche on y trouve un peu d'iode combiné. Par conséquent l'iode libre est capable d'entrer en combinaison stable assez rapidement avec les éléments de l'eau de mer.

2° L'iode libre et les épiphytes.

On sait que nous avons attribué à l'iodovolatilisation le fait que certaines Laminaires ont un thalle dépourvu d'épiphytes. Il nous a semblé en effet que l'émission d'iode sur un thalle actif pourrait peut-être s'opposer à la fixation des

spores d'algues étrangères. Sans parler des embryons ou des plantules de grandes algues, il est certain que les Diatomées épiphytes habituelles et très communes telles que les *Cocconeis* ne se rencontrent pas sur la surface des frondes saines de *L. flexicaulis* qui dégagent de l'iode fortement. Cette relation que nous supposons exister entre l'iodovolatilisation et l'absence d'épiphytes sur les régions actives des Laminaires, si elle n'est encore dans notre esprit qu'une simple hypothèse, est susceptible cependant de vérification expérimentale.

Voici quelques expériences qui donnent des précisions sur l'influence de l'iodovolatilisation sur les algues étrangères. Elles ont pour but de montrer des directions de recherche intéressantes.

Les Laminaires conservent dans un bac d'eau renouvelée leur activité iodogène pendant plusieurs semaines comme nous l'avons montré. Nous avons appliqué au contact de la région stipo-frondale d'une de ces Laminaires la fronde mince et très souple d'une Floridée draguée aux environs de Roscoff l'*Halymenia latifolia* Crouan. Cette algue, ainsi interposée au contact de l'assise iodogène, forme un écran parfait qui arrête complètement l'iode irradiée par la Laminaire.

L'iode libre émis est absorbé par les tissus de la Floridée et, après un certain temps d'expérience, si l'on place la fronde d'*Halymenia* au contact d'un papier bristol, on observe une tache bleue qui indique que l'iode absorbé momentanément est rejeté ensuite aussitôt par les tissus.

Il ne semble pas que la Floridée souffre rapidement de cette projection d'iode libre dans ses tissus ; nous n'avons pas d'ailleurs poussé l'expérience très longtemps (1/2 heure au plus) et l'examen histologique n'indiquait aucun signe de nécrose pour les cellules soumises à l'émanation d'iode. L'expérience ne peut pas être poursuivie très longtemps,

parce que la Laminaire perd bientôt son activité dans ces conditions.

L'expérience précédente peut aussi être réalisée facilement avec un *Porphyra* ou avec une Ulve. Les thalles de *Porphyra*, bien que formés d'une seule assise de cellules, se comportent au contact d'une fronde de Laminaire comme des écrans absorbants qui ne laissent rien passer. Nous n'avons pas cherché à savoir si, pour une certaine durée de l'expérience, le thalle des *Porphyra* finit par devenir perméable.

Avec l'*Ulva lactuca* la présence d'amidon dans les cellules permet de réaliser une réaction microchimique sans le secours de l'habituelle solution iodo-iodurée. En effet au bout de quelque temps de contact avec une fronde de *L. flexicaulis* active, on s'aperçoit qu'il est apparu des taches sombres sur le thalle de l'Ulve et le microscope montre qu'il s'agit de régions où l'amidon s'est coloré par l'action de l'iode émis naturellement.

V

ASSIMILATION DES COMPOSÉS IODÉS EXPÉRIENCES SUR L'ABSORPTION DE L'IODE LIBRE ET DES IODURES PAR LES LAMINAIRES

L'existence de l'iodovolatilisation attire l'attention sur l'assimilation des produits iodés de l'eau de mer qui, jusqu'à présent, n'avait pas pu être envisagée sous son vrai jour.

Nous avions pu croire à un moment donné que l'iodovolatilisation était un phénomène saisonnier chez les Laminaires ; nous pensions qu'après une période d'émission active effectuée en grande partie aux dépens des réserves profondes des tissus, les Laminaires pouvaient accumuler à nouveau

des iodures et passer par une phase d'assimilation active et d'iodovolatilisation faible ou nulle.

Mais les observations ultérieures ont montré que l'iodovolatilisation conserve une intensité toujours forte quelle que soit la saison et l'hiver n'est pas même une cause d'arrêt de cette fonction. Il y a donc lieu d'admettre que l'assimilation des produits iodés de l'eau de mer peut se poursuivre durant toute l'année sur les Laminaires immergées ou émergées et que l'iode passe ainsi perpétuellement dans une sorte de cycle.

Il ne faut d'ailleurs pas écarter l'idée que les iodures de réserve des tissus puissent prendre part à ces échanges incessants. Certains faits de disparition de l'iode profond au cours de l'été qui ont été signalés dans un chapitre précédent montrent que l'iodovolatilisation peut avoir une répercussion sur les réserves d'iode des tissus qui sont consommés en période d'iodovolatilisation active.

L'eau de mer renferme seulement des traces d'iode qui, d'après A. Gauthier, serait fixée sur des particules organisées ; il y en aurait un peu plus de 2 milligrammes par litre d'eau de mer et les mêmes proportions ont été signalées récemment par M. Freundler qui, au moyen d'une méthode de concentration de l'iode appliquée à l'eau du golfe de Gascogne, a retrouvé les chiffres d'A. Gautier, soit une teneur de 2 mg. 5 d'iode au litre [13].

C'est donc à partir de cette faible teneur moyenne en iode que les Laminaires, d'une part accumulent de l'iode dans leurs tissus sous une forme combinée et d'autre part volatilisent l'iode libre par la périphérie du corps.

Le fait que les jeunes plantules (de moins de dix centimètres de long) de *L. flexicaulis* ne sont pas actives dans l'iodovolatilisation semble indiquer que la constitution préalable d'une certaine réserve d'iode combiné dans les tissus est nécessaire pour l'iodovolatilisation normale.

Nous avons cherché à savoir si les Laminaires présen-

taient un pouvoir d'absorption pour l'iode libre et pour les iodures et nous avons dans ce but réalisé un certain nombre d'expériences en ajoutant à l'eau de mer normale de petites quantités d'iode libre ou d'iodures alcalins et en notant approximativement la vitesse d'absorption par les tissus d'une Laminaire vivante.

Nous n'avons pas eu l'intention d'envisager dans sa généralité les phénomènes d'absorption de l'iode ou des iodures, mais seulement d'étudier ces questions dans la mesure où elles peuvent expliquer certains aspects de l'iodovolatilisation.

Absorption de l'iode libre.

Il est nécessaire de se procurer tout d'abord une solution d'iode dans l'eau de mer d'un titre connu, par exemple à 1 p. 100.000 ; mais cette teneur ne s'obtient pas rapidement par dissolution directe de sorte que nous avons renoncé à ce procédé.

Pour réaliser rapidement une solution d'iode à 1 p. 100.000 dans l'eau de mer nous avons donc eu recours à la méthode suivante : on pèse 1 centigramme d'iode et on le broye dans un mortier en présence de 100 cc. d'eau de mer ; on verse l'eau de mer iodée obtenue dans un grand flacon d'un litre et on ajoute de nouveau 100 cc. d'eau de mer dans le mortier, on broye et on agite comme la première fois. L'opération est répétée jusqu'à ce qu'on ait rempli le flacon d'un litre.

L'eau iodée ainsi obtenue peut-être considérée comme renfermant 1 p. 100.000 d'iode au moment où elle vient d'être faite et elle donne nettement la réaction colorée lorsqu'on l'agite dans un tube à essai avec quelques gouttes de benzine.

La solution précédente a servi à des expériences d'absorption : dans un tube à essai au contact d'un stipe frais de *L.flexicaulis*,l'iode est absorbé en moins d'un quart d'heure,

c'est-à-dire qu'il n'est plus décelable au bout de ce temps.

En diluant la solution de façon à la mettre à 1 p. 200.000, nous avons noté que l'absorption avait lieu en une minute seulement. Or dans la solution diluée, avant expérience, l'iode est très facile encore á caractériser, tandis qu'il a disparu après une minute seulement de contact avec un stipe de Laminaire. Au lieu d'un simple tube à essai il vaut mieux se servir d'un tube à deux bouchons, de façon à éliminer l'influence possible des surfaces de section. L'expérience montre que l'iode d'une solution à 1 p. 100.000 dans l'eau de mer est absorbée en dix minutes dans ces conditions (fig. 18, p. 208).



Fig. 18. — Disposition d'une expérience sur l'absorption de l'iode ou des iodures par un stipe de *L. flexicaulis*.

Les mêmes expériences ont été réalisées après chloroformisation des stipes de Laminaires. L'action du chloroforme, qu'on fait agir comme il est indiqué sur la figure 7, p. 161 a duré dix secondes. Aussitôt après, le stipe chloroformé est placé dans un cylindre de verre, dans la solution iodée. L'expérience a duré dix minutes et, au bout de ce temps, l'iode est retrouvé facilement au moyen de la benzine. Par conséquent le stipe de Laminaire chloroformé n'absorbe plus l'iode libre: cette absorption doit donc être considérée comme un phénomène lié à la vitalité des cellules épidermiques.

Dans la série de ces essais sur l'absorption de l'iode libre par les Laminaires, nous avons utilisé des algues fraîches, mais qui étaient conservées dans un bac avec eau courante depuis quelques jours. Ces expériences montrent que ces Laminaires qui émettent de l'iode libre lorsqu'elles sont placées dans de l'eau de mer renouvelée, en absorbent au con-

traire, si la teneur en iode du milieu vient à atteindre une certaine valeur telle que celle qui a été réalisée dans nos essais et c'est probablement cette propriété remarquable de l'épiderme d'être suivant le cas émetteur ou absorbant d'iode qui empêche l'iode de s'accumuler dans l'eau de mer au voisinage des Laminaires.

Absorption des iodures

Une solution à 1 p. 100.000 a été réalisée en dissolvant de l'iodure de potassium dans l'eau de mer telle qu'elle est fournie par la Station biologique de Roscoff.

L'iode est facile à caractériser dans la solution ainsi obtenue au moyen d'un peu d'acide nitré et de quelques gouttes de benzine. Nous avions vérifié auparavant d'autre part que l'eau de mer du laboratoire ne donnait pas cette réaction.

L'expérience d'absorption réalisée avec cette solution et un stipe frais de Laminaire, au moyen d'un tube à deux bouchons, a montré que l'iodure disparaissait peu à peu de la solution, mais assez lentement. Au bout d'une demi-heure de contact, il reste encore un peu d'iodure dans la solution et d'autre part il n'est pas apparu d'iode libre.

Dans une autre expérience, nous avons pu reconnaître encore des traces d'iodure dans la solution au bout d'une heure de contact. Par conséquent l'iodure de potassium dans de l'eau de mer normale, à la concentration de 1 p. 100.000 n'est pas absorbé très rapidement dans les conditions de l'expérience (1).

L'essai de solutions moins diluées d'iodures a fait apparaître d'autre part un phénomène très curieux de renforcement de l'iodovolatilisation dont il sera question dans un chapitre suivant.

1. Ce fait est pour l'instant peu explicable et contraire aux prévisions normales.

VI

INTENSITÉ DE L'IODOVOLATILISATION. MESURES QUANTITATIVES.

Pour déterminer l'intensité de l'iodovolatilisation il est nécessaire de mesurer les quantités d'iode qui sont mises en jeu dans ce phénomène. Ces mesures doivent être faites sur les algues vivantes, dans leur milieu naturel, si l'on veut avoir une idée exacte des échanges réels d'iode avec le milieu. Si l'on veut seulement se borner à connaître la valeur de l'iodovolatilisation sur des algues récoltées ou sur des algues coupées il devient plus facile de réaliser les expériences, mais l'intérêt des résultats obtenus sera moins grand.

Pour les algues en place nous croyons que des analyses d'eau de mer prise au voisinage des Laminaires pourraient, à condition de préciser les conditions de l'expérience, donner des indications sur la valeur de l'iodovolatilisation. On doit observer cependant que le voisinage d'un champ de Laminaires qui s'accroît, a pour effet de retirer une certaine quantité d'iode de l'eau de mer ; de même une forêt qui s'accroît retire à l'atmosphère une quantité importante de carbone. Mais la teneur moyenne de l'air en gaz carbonique est peu modifiée, même au voisinage immédiat de la forêt et le dégagement de gaz carbonique dû à la respiration n'en existe pas moins. Il est donc possible qu'il en soit ainsi pour l'iode, de sorte que l'intensité de l'iodovolatilisation pourrait être très grande sans que la teneur de l'eau de mer en iode soit très modifiée, même au voisinage des champs de Laminaires.

On voit donc que la mesure directe des échanges d'iode entre les Laminaires et le milieu marin sera délicate ; elle nécessitera une technique appropriée et des travaux orientés

uniquement dans ce but. Pour l'instant nous avons eu seulement la curiosité de rechercher quel pouvait être l'ordre de grandeur des quantités d'iode mises en jeu dans l'iodovolatilisation.

Nous avons pensé que l'intensité de la coloration amylique et le temps nécessaire pour obtenir cette coloration étaient des éléments utilisables dans ce but. En effet il suffit de réaliser *in vitro* un système dégageant des vapeurs d'iode d'une façon à peu près homogène par unité de surface pour obtenir un terme de comparaison avec la fronde d'une Laminaire. Par exemple un corps poreux comme le liège absorbe l'iode facilement et, lorsqu'il est placé à l'air libre, il émet de l'iode par sa surface à la façon d'un thalle de Laminaire. De l'iode en cristaux peut être placé au fond d'un tube de verre de façon à ce qu'il se volatilise peu à peu à la sortie du tube ; la coloration bleue obtenue sur un papier bristol humide placé à l'orifice du tube, au bout d'un temps donné, est fonction de la quantité d'iode qui se dégage effectivement et que l'on calcule par des pesées.

Par différentes mesures on arrive à ce résultat qu'il faut environ 1/3.000 mgr. d'iode pour déterminer sur un centimètre carré de papier réactif une coloration bleue d'une intensité moyenne.

En comparant la coloration obtenue de cette façon avec celle que donnerait une *Laminaria flexicaulis* fraîche et en place,nous voyons qu'il faudrait tout au plus dix secondes (1) pour obtenir le même résultat sur certains points de la fronde d'une Laminaire. Le calcul indique ensuite que l'émission d'iode sur une fronde de Laminaire correspond à une sortie de plus d'un milligramme par centimètre carré et par vingt-quatre heures.

C'est une indication qui nous suffit pour l'instant, mais il est nécessaire de savoir si cette intensité est réalisée norma-

1. Ce temps peut être même bien moindre parfois.

lement sur une grande étendue de la fronde d'un *L. flexicaulis* et si elle se maintient dans les diverses conditions rencontrées par l'algue durant une période de 24 heures.

Aux grandes marées d'équinoxe qui sont réalisées en septembre-octobre d'une part, en mars-avril d'autre part, les *L. flexicaulis* dans leur majorité viennent à sec ou sont recouvertes seulement d'une couche d'eau peu importante deux fois par 24 heures. En automne dernier, à Roscoff, nous avons pu constater que toutes les *L. flexicaulis* qui assèchent volatilisent l'iode fortement. Il n'y a d'exception que pour les plantules jeunes (de moins d'un décimètre de longueur environ).

D'autre part sur un même pied de Laminaire adulte l'iodo-volatilisation est intense sur une grande étendue de la fronde et nullement sur une région limitée. Dans de nombreux essais nous avons obtenu une coloration bleue très nette d'un papier réactif au bout d'un contact de dix secondes à peine, sur toute l'étendue du stipe et sur la plus grande partie de la lame, sur l'une ou l'autre face, à l'exception seulement des extrémités de la fronde qui sont de moins en moins actives à mesure qu'on se rapproche des régions âgées, usées et plus ou moins couvertes d'épiphytes.

Un pied complet de *L. flexicaulis* de taille moyenne pèse à l'état frais 5 ou 600 grammes et à l'état sec 100 grammes environ. D'après diverses analyses une Laminaire de ce poids contiendrait à peu près un gramme d'iode combiné dans ses tissus. Or la surface qui volatilise de l'iode chez une Laminaire de cette taille est considérable et, en l'évaluant à 10 décimètres carrés, on a la certitude d'être au-dessous de la réalité. Par conséquent si cette Laminaire conservait l'activité iodogène qu'on lui voit à basse mer lorsqu'elle assèche, pendant 24 heures, elle volatiliserait durant cette période 1 gramme d'iode (en prenant pour base une émission de 1 milligramme par cmq.), c'est-à-dire une quantité de même ordre que sa propre réserve des tissus en iode combiné.

Un pareil dégagement d'iode n'est guère admissible d'une façon continue. Il ne se produit que pendant les périodes d'émersion sans doute et se ralentit beaucoup lorsque les algues sont immergées.

Il y a lieu peut-être d'envisager deux hypothèses :

1° La coloration amylique obtenue *par contact* au moyen d'un papier réactif donne une idée inexacte des sorties réelles d'iode à la surface des frondes.

Il s'agit là d'une supposition assez vraisemblable qui relève de l'expérience : dans certains cas nous avons obtenu une série de colorations d'un papier réactif, par des contacts répétés sur un même emplacement de la fronde d'une Laminaire ; il arrive alors un moment où la coloration se fait moins rapidement et même cesse tout à fait. Quelle est la cause de cet arrêt ? il est difficile de le dire, mais il n'est pas impossible que le contact d'un papier réactif détermine une sorte d'épuisement du pouvoir iodogène en provoquant une sortie d'iode plus importante que celle qui aurait lieu spontanément ; en un mot il se produirait des actions de contact. Il se peut également qu'il y ait simplement une gêne de la volatilisation par commencement d'asphyxie.

Pour éviter les causes possibles d'erreurs provenant de ces actions, il est nécessaire de tenir compte, dans une mesure de l'intensité, seulement des effets de coloration obtenus à distance. Pour cela nous avons employé des plaques perforées d'épaisseur connue que nous avons interposées entre les tissus émetteurs d'iode et le papier sensible. Ainsi dans certaines expériences réalisées en mai à Wimereux nous avons utilisé des plaques de zinc de 8/10 mm. d'épaisseur avec des perforations de 1,5 mm. de diamètre ; ces plaques interposées entre une fronde de *L. flexicaulis* et un papier bristol humide ne permettaient aucun contact entre l'algue et le papier, tout en maintenant une distance très réduite (8/10 mm.) favorable à la réussite. Dans ces conditions avec une fronde de Laminaire essuyée au préalable

de petits cercles bleus ont été obtenus nettement en moins de 15 secondes et, d'après la comparaison que nous avons faite de ce dégagement avec certaines émissions d'iode obtenues *in vitro* à travers les mêmes plaques perforées et d'intensité connues, nous avons calculé que ces frondes de *L. flexicaulis* de Wimereux dégageaient, au moment de l'observation, c'est-à-dire au sortir de l'eau, environ 2 mgr. par 24 heures et par centimètre carré de surface.

Par conséquent l'intensité de l'émission d'iode sur la fronde des Laminaires émergées est de l'ordre de plusieurs mgr. par 24 heures et par centimètre carré de surface active comme nous l'avons déjà indiqué dans une première approximation [8]. Cette intensité a été retrouvée sur toutes les *L. flexicaulis* adultes de Wimereux sur lesquelles l'essai a été réalisé ; le chiffre indiqué est donc certainement tout à fait normal et s'il s'applique plus particulièrement à la zone stipo-frondale, il ne concerne nullement une région étroite et se retrouve sur une grande partie de la base des lames c'est-à-dire certainement sur plusieurs décimètres carrés d'étendue.

Avec l'emploi de ces plaques perforées nous avons donc une méthode commode et, croyons-nous, suffisamment précise, d'évaluer l'intensité de l'iodovolatilisation. Elle permet d'éviter tout ce qui peut modifier les résultats ou rendre impossibles les comparaisons lorsqu'il y a contact. Lorsqu'elle aura été mise en œuvre d'une façon systématique, elle fournira certainement des résultats d'un très grand intérêt.

2° L'intensité de l'émission d'iode, très forte comme nous venons de le voir sur des Laminaires prises au sortir de l'eau et sur des Laminaires émergées naturellement à très basse mer, est sans doute plus ou moins réduite sur les algues immergées, condition normale de la vie des Laminaires, ce qui permet une reconstitution des réserves iodées durant les périodes d'immersion.

En effet l'iodovolatilisation chez les algues immergées existe bien, comme nous l'avons démontré par de nombreuses expériences soit sur des Laminaires recouvertes d'une faible épaisseur d'eau, comme celles qu'on atteint à base mer à la main, soit même sur des algues immergées profondément (3 m. de profondeur). Il a été reconnu toutefois que l'émission d'iode sur les algues dans l'eau est plus difficile à mettre en évidence que sur les algues dans l'air, qu'elle est assez souvent inconstante, enfin qu'elle n'a été observée à de grandes profondeurs qu'avec l'intervention d'une compression assez forte.

Les faits précédents suggèrent l'idée d'une volatilisation dans l'eau, réelle à coup sûr, mais irrégulière et d'une intensité relativement faible ; ils permettent de croire à la rigueur à la cessation possible de l'émission sous une très grande épaisseur d'eau, quatre ou cinq mètres par exemple, ce qui représente une condition moyenne de la vie des Laminaires dans la région de Roscoff.

Est-il possible de mesurer approximativement l'intensité de la volatilisation sur des algues dans l'eau, comme on l'a fait pour les algues dans l'air ? Les essais par contact ne conviennent pas, puisqu'ils sont passibles des mêmes objections que pour les expériences dans l'air. L'emploi de plaques perforées est donc nécessaire et il permet d'observer commodément l'émission d'iode à distance dans l'eau. Les expériences réalisées soit à Quiberon, soit à Wimereux ont permis d'établir que l'intensité de l'iodovolatilisation dans l'eau (à faible profondeur) est beaucoup moindre que dans l'air (1). En effet il faut 10 à 20 fois plus de temps pour observer les mêmes effets de coloration, avec les mêmes plaques perforées, dans l'eau que dans l'air et cette différence de résultat ne peut être due à ce que dans le premier cas le

1. Cette intensité relativement faible est cependant assez marquée pour permettre le bleuissement d'un papier sensible *par contact* en un temps très court parfois comme il a été exposé précédemment (chap. I).

milieu interposé est de l'eau et dans le second une mince couche d'air.

D'autres expériences devront compléter ces observations encore assez limitées, mais, dès maintenant on peut tenir pour certain que l'iodovolatilisation est très diminuée sur les Laminaires immergées, qu'elle est irrégulière, c'est-à-dire qu'elle peut cesser complètement sur certains exemplaires et sur certaines parties des frondes et qu'elle est limitée sans doute par un phénomène antagoniste d'absorption. Il semble bien d'autre part que la volatilisation se poursuit jusqu'à plusieurs mètres de profondeur, mais l'intensité n'en est pas connue suffisamment dans ces conditions.

En résumé ces expériences sur la mesure des intensités de volatilisation sont encore trop récentes pour autoriser des conclusions formelles, mais l'orientation de la recherche est bonne et les méthodes se perfectionnent. Déjà on entrevoit que l'iodovolatilisation ne peut être considérée comme une simple excrétion, comme le rejet au dehors d'un excès d'iode momentané, mais qu'elle est plutôt une fonction véritable qui met en jeu des quantités d'iode importantes et qui nécessite un renouvellement continu.

VII

ACTION DE DIVERS FACTEURS SUR L'IODOVOLATILISATION

1° Lumière.

La radiation lumineuse n'intervient pas directement sur l'iodovolatilisation ; autrement dit les Laminaires placées à l'obscurité complète continuent à émettre de l'iode libre sans changement appréciable, pendant un certain temps tout au moins : telle est la conclusion que nous avons for-

mulée après nos premières expériences sur l'action de la lumière.

Dans la suite ces idées ont été vérifiées dans diverses conditions : c'est ainsi qu'à Roscoff nous avons conservé des *L. flexicaulis* dans un bac d'eau renouvelée et qu'à diverses heures de la journée et de la soirée, nous avons observé l'émission d'iode libre sans pouvoir mettre en évidence une différence appréciable entre les résultats obtenus à la lumière et à l'obscurité complète. Cependant nous avons fait des vérifications de ce genre après quelques heures de nuit, mais non après une très longue période d'obscurité.

D'autre part la lumière solaire directe entrave ou même supprime complètement l'iodovolatilisation : des frondes de *L. flexicaulis* exposées à la lumière solaire directe cessent bientôt leur activité iodogène et cet arrêt est définitif si l'action est suffisamment prolongée ; on savait déjà qu'une insolation trop intense était nuisible aux Laminaires et il est probable que l'assise iodogène est rapidement tuée dans ces conditions. Il est vraisemblable d'ailleurs que c'est plutôt le dessèchement consécutif à une insolation directe qui est en jeu dans cette expérience, plutôt que l'effet de la radiation lumineuse elle-même et nous n'avons pas eu l'occasion de noter l'influence de la radiation lumineuse sur des Laminaires protégées contre la dessiccation et contre l'élévation de température par une certaine épaisseur d'eau.

2° Température.

L'action des températures élevées agissant sur l'assise iodogène a été envisagée dans un chapitre précédent et nous avons prouvé l'existence de températures qui, suivant la durée de leur action, arrêtent complètement l'émission d'iode par suite de la mort des cellules iodogènes, ou bien provoquent un renforcement momentané de l'iodovolatilisation.

Les températures mortelles sont au voisinage de 50 ou 55 degrés et correspondent à celles qui sont déjà connues pour leur action destructive du protoplasme vivant en général.

Il serait désirable de connaître l'influence des températures diverses compatibles avec la vie normale des Laminaires et de construire la courbe donnant l'intensité de l'émission d'iode en fonction de la température du milieu. Dans les conditions naturelles ce facteur ne joue pas sans doute un rôle très important, parce que les Laminaires évoluent de l'hiver à l'été dans des eaux de températures assez uniformes.

3° Oxygène.

La mise en liberté d'iode libre par les Laminaires résulte sans aucun doute de procédés d'oxydation s'appliquant aux composés iodés des tissus. La nécessité de l'oxygène et son influence directe sur l'iodovolatilisation sont donc extrêmement probables. Nous n'avons pas jusqu'ici cherché à le vérifier expérimentalement. Cela tient à ce que l'oxygène est déjà par lui-même indispensable à la vie et qu'il apparaît délicat de séparer le rôle ordinaire de l'oxygène dans la respiration et celui qu'il doit avoir dans l'iodovolatilisation. Cependant il serait sans doute assez facile de noter l'influence d'un commencement d'asphyxie sur l'émission d'iode par les algues, en les maintenant dans une atmosphère de gaz carbonique ou d'azote, ou même simplement dans de l'eau de mer privée d'air par ébullition.

Il serait également intéressant de savoir quelle influence exerceraient des doses d'oxygène plus grandes que les doses normales.

Dans les cas de renforcement de l'iodovolatilisation qui se produisent à la suite de traumatismes, on peut supposer avec une certaine vraisemblance que le rôle des blessures est de faciliter les oxydations dans leur voisinage. Il se produit

peut-être quelque chose d'analogue à l'effet bien connu de coloration obtenue chez certains Champignons supérieurs à la suite d'une lésion (1), mais il ne faut pas oublier que chez les Laminaires la plupart des cellules mises au contact de l'air ne réagissent pas, bien qu'elles soient riches en iodures et ce sont seulement les cellules épidermiques qui voient le pouvoir iodogène, qu'elles possédaient avant l'expérience, spécialement renforcé. En outre dans le cas d'une strie très fine de la surface du thalle, l'excitation se propage de chaque côté jusqu'à une distance de 0 mm. 5 en moyenne, en des points où l'oxygène parvient certainement plus facilement par la cuticule que par l'intermédiaire de la lésion. Par conséquent l'analogie avec le phénomène présenté par les Champignons est sans doute plus apparent que réel.

4° Anesthésiques.

L'action des anesthésiques a déjà été traitée précédemment et nous avons vu que l'iodovolatilisation se montre très sensible aux vapeurs d'éther et de chloroforme qui arrêtent complètement à certaines doses l'émission d'iode.

5° Iodures alcalins et alcalino-terreux.

Dans un chapitre précédent nous avons cherché à savoir si les iodures alcalins étaient absorbés rapidement par les Laminaires vivantes. Nous sommes arrivé à montrer que l'iodure de potassium en solution à 1 p. 100.000 dans l'eau de mer normale disparaissait peu à peu au contact d'un stipe frais de *L. flexicaulis* et nous avons admis que l'iodure

1. Em. Bourquelot et G. Bertrand, Les ferments oxydants dans les Champignons (*Bull. Soc. Myc. Fr.*, XII, p. 18, 1896).
Em. Bourquelot et G. Bertrand, Sur la coloration des tissus et du suc de certains Champignons au contact de l'air (*Ibid.*, XII, 1896).

était absorbé assez lentement dans ces conditions. Il n'apparaît pas d'autre part d'iode libre appréciable dans l'eau de mer iodurée.

Ces expériences ont été faites avec le dispositif du tube à deux bouchons qui a été décrit plus haut. En variant les expériences nous avons placé les Laminaires en contact avec des solutions plus concentrées et nous avons remarqué qu'à certaines doses l'eau de mer iodurée avait une influence remarquable sur l'iodovolatilisation.

Ce sont les solutions d'iodure de potassium à 1 p. 1000 qui se sont montrées particulièrement actives : ces solutions ont été préparées en dissolvant un gramme d'iodure pur dans un litre d'eau de mer normale (eau de mer fournie par la Station biologique à Roscoff).

L'expérience que nous avons réalisée était la suivante : un tronçon cylindrique du stipe d'un *L. flexicaulis* fraîchement coupé a été placé comme l'indique la figure (p. 208) dans un tube de verre cylindrique au contact de la solution d'eau de mer iodurée à 1 p. 1000. Le tube était rempli d'eau jusqu'à une certaine distance du sommet, puis placé debout sur la table du laboratoire : d'un côté l'extrémité du stipe était à moitié engagée dans un bouchon assurant une fermeture hermétique, de l'autre la surface de section dépassait largement le sommet du tube, de sorte qu'il n'y avait aucun contact entre les tissus coupés et le liquide ; le tube était laissé ouvert à sa partie supérieure.

Au bout d'un quart d'heure de contact, la moitié du contenu est décantée dans un tube à essai et agitée en présence de quelques gouttes de benzine. L'essai indique une trace d'iode libre nettement reconnaissable, le reste du contenu décanté aussitôt après dans un tube à essai et agité avec de la benzine montre également de l'iode libre en quantité un peu plus forte que dans l'essai précédent.

Il s'est donc formé de l'iode libre en quantité appréciable dans l'eau de mer iodurée au contact du stipe de Laminaire

et la quantité d'iode est moindre dans la partie supérieure du tube d'où une partie de l'iode a pu s'échapper au dehors, le tube étant ouvert.

Cette apparition d'iode dans l'eau de mer iodurée au contact d'un stipe de Laminaire doit être expliquée : il est bon de noter d'abord que de l'eau de mer iodurée simplement placée dans un tube en l'absence de tout contact avec une Laminaire ne renferme pas d'iode libre, non seulement au bout d'un quart d'heure, mais au bout de plusieurs jours, car l'iodure de potassium est un corps relativement stable ; ce fait met bien en évidence le rôle de la Laminaire et nous avons cherché à savoir de quelle nature était ce rôle.

Une série d'expériences du même genre réalisées avec diverses algues telles que *Saccorhiza bulbosa*, *Himanthalia lorea*, *Chorda filum*, *Cystoseira ericoides*, donnent un résultat négatif au sujet de la production d'iode libre dans l'eau de mer iodurée, tandis qu'il y a apparition d'iode libre avec *L. saccharina* et *L. Cloustonii* comme avec *L. flexicaulis*.

D'autre part des stipes de *L. flexicaulis* ou de *L. saccharina* traités préalablement à l'expérience par du chloroforme ou de l'éther suffisamment longtemps et mis ensuite en présence d'eau de mer iodurée se comportent négativement : aucune trace d'iode n'apparaît dans le liquide. Cette expérience montre le rôle des cellules vivantes, tandis que les précédentes montraient le rôle des algues à iodovolatilisation.

En présence de ces faits nous pouvions nous demander si l'apparition de l'iode dans la solution iodurée était due à une décomposition de l'iodure de potassium effectuée en dehors des cellules, par une action à distance (due par exemple à une sécrétion en dehors des cellules), ou si elle résultait seulement d'une forte émission d'iode libre par l'assise iodogène.

Les observations suivantes indiquent que la deuxième hypothèse seulement doit être retenue : en effet, lorsqu'un

stipe de *L. flexicaulis* est resté en contact un quart d'heure avec de l'eau de mer iodurée à 1 p. 1000, il est facile de constater que ce stipe, placé sur papier sensible, après un lavage soigné dans l'eau de mer, bleuit le papier à peu près instantanément ; or ceci se produit même si le stipe en question, avant l'expérience, se montrait peu actif. De toutes façons, après un séjour dans l'eau de mer iodurée, on constate qu'un stipe de Laminaire bleuit plus fortement le papier bristol qu'avant l'expérience.

Il devient donc extrêmement probable que l'apparition d'iode libre dans de l'eau de mer iodurée au contact d'un stipe de Laminaire est due à une émission d'iode particulièrement forte au niveau de l'assise iodogène. Il est en effet absolument acquis que l'iodovolatilisation normale est fortement renforcée par suite d'un contact avec la solution d'iodure et ce renforcement est visiblement assez intense pour être à lui seul la cause de l'apparition de l'iode libre dans la solution.

Il n'est donc pas nécessaire de supposer l'existence d'une sécrétion occasionnant la décomposition de l'iodure de potassium à distance, puisqu'il existe un fait bien établi qui suffit à expliquer la production d'iode libre dans ces conditions.

Il reste à savoir quelle est la nature de l'action spéciale de l'iodure sur l'assise iodogène : il est probable que ce sel agit parce qu'il est absorbé par les cellules épidermiques auxquelles il fournit l'aliment de leur production d'iode libre. Nous n'avons pas jusqu'ici la preuve directe de ce fait, mais il est très vraisemblable, puisque déjà dans les conditions naturelles les cellules iodogènes fonctionnent aux dépens des iodures renfermés dans les cellules corticales.

Quelques expériences montrent d'ailleurs qu'un sel quelconque n'agit pas comme un iodure : si l'on répète l'expérience avec le tube à deux bouchons en employant du bromure de potassium au lieu d'iodure, on n'observe pas de formation d'iode libre dans le liquide. Il semble donc bien que l'iodure

agisse non comme un excitant banal, mais comme un corps susceptible de fournir un complément d'iode aux cellules.

L'action favorisante de l'iodure de potassium n'est pas seulement visible dans les expériences indiquées précédemment qui toutes étaient d'une durée uniforme d'un quart d'heure : l'iodure de potassium agit en effet d'une manière extrêmement rapide. Si l'on dispose d'un *L. flexicaulis* récolté depuis quelque temps et d'activité iodogène très faible ou même nulle,il suffit d'humecter le stipe ou la fronde avec une goutte d'eau de mer iodurée à 1 p. 1000, puis de placer cette région sur un papier bristol, pour voir apparaître une tache bleue correspondant à l'emplacement mouillé par l'iodure. La rapidité de cette action semble indiquer que l'iodure de potassium est immédiatement décomposé dès qu'il a pénétré dans les cellules épidermiques.

Tous nos essais pour réaliser cette réaction « *in vitro* » au moyen d'un principe extrait des cellules de Laminaires ont été infructueux jusqu'à présent.

Les concentrations en iodure de potassium ne sont pas indifférentes bien entendu dans ces expériences ; les solutions au millième sont très favorables, mais ce ne sont pas les seules. Il résulte d'un certain nombre d'essais que les solutions plus concentrées ont également une action très nette et que la teneur de 5 p. 1000 donne des résultats à peu près identiques à celle du millième. Par contre les solutions diluées à 1 p. 10.000 et 1 p. 100.000 n'ont pas d'action appréciable, celles à 1 p. 100 non plus ; ces dernières sont probablement nuisibles aux cellules vivantes. Les doses les plus favorables à l'iodovolatilisation sont donc comprises entre 1 et 5 p. 1000 approximativement.

Le rôle spécialement favorable de ces solutions est peut-être dû au fait que, dans les conditions naturelles, les cellules de l'assise iodogène et les cellules corticales voisines contiennent des iodures alcalins dans leurs vacuoles à une con-

centration analogue (1). La coloration vitale au bleu de crésyl qui fait apparaître des cristaux rouges dans ces cellules apporte la preuve que les iodures y sont relativement concentrés comme nous l'avons montré.

L'influence spéciale des iodures, en solution dans l'eau de mer, sur les algues marines n'est pas limitée aux Laminaires riches en iode ; elle s'applique également à certaines Fucacées et Floridées chez lesquelles l'iodovolatilisation existe également.

Jusqu'ici on ne connaît chez ces algues qu'une activité iodogène assez faible, de sorte que l'étude détaillée de leur iodovolatilisation ne peut pas être entreprise avec autant d'avantages et de facilités que chez les Laminaires, c'est pourquoi il est nécessaire de traiter à part ce sujet.

1. L'action du bleu de crésyl indique une concentration d'environ 5 ‰ comme probable dans les cellules corticales périphériques des Laminaires (voir p. 191, en note).

DEUXIÈME PARTIE

Iodovolatilisation chez les Algues autres que les Laminaires.

I

PHÉOPHYCÉES

Un certain nombre de Phéophycées, en dehors des Laminaires, présentent l'iodovolatilisation, mais l'intensité du phénomène y est assez faible en général. On peut classer les algues reconnues actives de la façon suivante et par ordre approximatif de valeur : *Ascophyllum nodosum, Fucus vesiculosus, Pelvetia canaliculata, Fucus serratus, Fucus platycarpus.* Ce dernier *Fucus* qui avait été considéré comme inactif dans nos premières publications [4], même après l'action de l'eau de mer iodurée [9], doit être rangé d'après nos dernières expériences parmi les algues très faiblement actives : en effet, après action de l'eau de mer iodurée au millième, ce *Fucus* a bleui nettement un papier bristol en quelques points et nous admettons dans ce cas qu'il existe une très faible volatilisation naturelle.

Cet exemple nous amène à parler de la méthode employée pour caractériser l'émission d'iode par les algues du type des Fucacées : elle consiste à mettre au contact d'un papier bristol les algues fraîches et à les soumettre à une légère

pression pendant un temps variable (en général moins d'une heure est suffisant). La pression exercée n'a pas été exactement déterminée ; il serait d'ailleurs vain de vouloir obtenir une grande précision à ce sujet et il est certain que la pression n'agit pas comme une cause déterminante, mais qu'elle agit par la mise en contact intime établie par ce moyen entre les algues et le papier réactif. Cette conviction que nous avons au sujet de l'influence de la pression et de son rôle dans ces expériences ne sera peut-être pas partagée par tout le monde. Pourtant lorqu'une touffe de *Fucus* ou d'*Ascophyllum* est placée dans un double de papier sous la pression d'un livre ordinaire il est abusif de parler de « traumatisme » déterminé par la pression. Or c'est dans ces conditions que s'observe l'émission d'iode chez ces algues et nous rappelons l'expérience du même genre que nous avons réalisée plusieurs fois sur la grève avec des *Fucus vesiculosus* en place [4, 6].

Dans quelques cas favorables d'ailleurs, nous avons pu montrer que des *Fucus* et des *Ascophyllum* frais, simplement posés sur un papier bristol, y déterminent des taches bleues. On imagine sans peine combien le contact est irrégulier de cette façon et combien la démonstration d'une émission d'iode est rendue plus difficile ; cependant nous avons souvent observé que des *Fucus vesiculosus* et des *Ascophyllum nodosum* bleuissaient le papier sans autre artifice dans ces conditions (1). Les *Ascophyllum nodosum* qu'on recueille près du laboratoire de Roscoff conviennent particulièrement bien pour cette expérience ; les taches bleues se produisent aux points de contact avec le papier réactif et ne correspondent pas à des blessures préexistantes ni à des surfaces de section.

L'emploi de l'eau de mer iodurée rend l'expérience plus

1. Cette expérience très remarquable ne peut pas être réalisée avec n'importe quels *Fucus* ou *Ascophyllum*, car ces algues se comportent très différemment suivant leur lieu d'origine et suivant l'époque de l'année. On peut constater des exemples du même fait avec les Floridées comme nous le verrons plus loin.

facile à réussir, car, après un bain d'un quart d'heure au contact d'iodure de potassium à 1 p. 1000 et lavage soigné à l'eau de mer, les *Fucus*, les *Ascophyllum* et même les *Pelvetia*, simplement déposés sur un papier bristol, s'y décalquent plus ou moins en bleu. Avec les *Pelvetia* nous avons pu observer la formation de taches bleues bien marquées sans contact, la distance entre la fronde et le papier étant très courte (1 ou 2 mm.). Les *Pelvetia* de Roscoff, tels qu'on les récolte sur les parois du vivier de la Station, réagissent d'une manière particulièrement forte avec l'iodure de potassium. Il y a de belles recherches à entreprendre, qui ne présenteraient aucune sérieuse difficulté, sur la relation qu'il peut y avoir entre l'absorption des iodures et l'émission d'iode libre par ces algues.

L'émission d'iode chez les Fucacées peut avoir lieu sur toute l'étendue des frondes, ainsi qu'au niveau des réceptacles ; le dégagement est donc réparti sur toute la surface du thalle comme chez les Laminaires. Il n'a pas été possible jusqu'ici de reconnaître des zones de plus forte et constante activité sur la fronde ; cependant chez l'*Ascophyllum* ce sont souvent les parties les plus anciennes du thalle qui réagissent le plus fortement et chez le *Pelvetia* il paraît assez général que la base soit plus active que le sommet des frondes, sans doute parce qu'elle est plus riche en iode combiné.

L'existence d'une assise iodogène représentée par l'épiderme de revêtement, peut être prouvée chez les Fucacées par quelques expériences. La difficulté de réaliser les mêmes expériences que chez les Laminaires résulte de la plus faible intensité de l'émission ; cependant avec l'*Ascophyllum nodosum* nous avons pu répéter avec succès l'expérience de la coupe tangentielle : si l'on enlève au moyen d'un rasoir une pellicule mince de la surface du thalle, la région ainsi privée de son épiderme ne bleuit pas le papier comme les parties voisines et se détache en blanc après contact sur un papier amidonné.

Un dernier caractère permet d'assimiler les Fucacées aux Laminaires, c'est l'action des blessures qui, chez l'*Ascophyllum* du moins, où l'expérience est assez facile à réaliser, donne des résultats comparables à ceux qu'elle donne chez un *Laminaria* : il y a renforcement de l'iodovolatilisation au voisinage des coupures du thalle, mais il faut reconnaître que le fait est beaucoup moins net que chez les Laminaires.

A propos des Fucacées à iodovolatilisation nous avons cherché à savoir s'il y avait des cellules spéciales comparables à des ioduques dans le tissu épidermique et nous n'avons rien trouvé de ce genre ; d'autre part des fragments de thalle de *Fucus* ou d'*Ascophyllum* peuvent être écrasés et broyés sur une feuille de papier bristol, sans qu'il se produise de coloration bleue ; de même ces fragments peuvent être traités par les acides faibles soit tels quels, soit après écrasement, sans qu'apparaisse la moindre trace d'iode libre ; or il en irait autrement s'il y avait des ioduques comparables à ceux des Floridées. Cependant, dans certains cas avec l'*Ascophyllum nodosum*, l'acide sulfurique à 5 p. 100 a provoqué un dégagement d'iode.

Si au lieu d'employer l'acide sulfurique à 5 % seul, on ajoute quelques gouttes de nitrite à 20 %, il apparaît presque toujours une légère coloration bleue sur le papier bristol. Il est intéressant de signaler qu'on peut mettre en évidence les composés iodés des tissus de *Fucus vesiculosus*, *Ascophyllum nodosum* et même *Pelvetia canaliculata* au moyen de la réaction classique de l'acide sulfurique nitré. On ne s'imagine pas en effet d'ordinaire que ces algues contiennent assez d'iode pour qu'un simple essai rapide de ce genre puisse le caractériser.

On sait d'après les recherches de Van Itallie, de Kylin, que les Fucacées contiennent des iodures alcalins comme les Laminaires. Kylin a extrait au moyen d'alcool des iodures alcalins des algues suivantes : *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *F. serratus*, *Laminaria Cloustonii*, *L. digitata*,

L. saccharina. Quant au *F. platycarpus* et au *Pelvetia canaliculata* on n'en connaît pas d'analyse.

Nous avons recherché les iodures dans les cellules épidermiques des *Fucus*, *Ascophyllum* et *Pelvetia* par la méthode des colorations vitales au bleu de crésyl, mais, en aucun cas, nous n'avons vu apparaître de cristaux rouges dans les cellules épidermiques de ces algues. Le bleu de crésyl colore en bleu-verdâtre des granulations et il ne se forme aucun précipité d'aiguilles rouges. Cela indique, comme nous l'avons vu, non que les cellules sont dépourvues d'iodures, mais que les iodures n'y sont pas à l'état de solution concentrée. Il n'y a donc pas comme l'avait suggéré Mangenot [23] une relation nécessaire entre l'iodovolatilisation et les cellules où apparaissent des cristaux rouges par le bleu de crésyl. Nous verrons que l'étude des Floridées confirme ce point de vue.

Les Fucacées à iodovolatilisation sont en même temps les plus riches en iode d'après les analyses connues, mais il est permis de croire que celles que nous avons signalées ne sont pas les seules à émettre de l'iode. Dans nos premières expériences nous nous sommes contenté de placer les algues fraîches entre deux feuilles de bristol sous une légère pression et de noter s'il y avait dégagement d'iode à divers intervalles de temps. Nous avons signalé que les algues suivantes étaient inactives dans ces conditions : *Fucus platycarpus*, *Halydris siliquosa*, *Bifurcaria tuberculata*, *Himanthalia lorea*, *Cystoseira fœniculacea*, *Saccorhiza bulbosa* [47]. Plus tard, nous avons noté l'inactivité dans ces conditions de *Dictyota dichotoma*, *Scytosiphon lomentarius*, *Desmarestia ligulata* et *D. Dudresnayi* (dragué en baie de Morlaix), *Chordaria flagelliformis* (récolté en Irlande), *Fucus inflatus* (Irlande), *Chorda filum*, *Alaria esculenta* (Irlande, baie de Morlaix).

Cependant, l'action favorisante de l'eau de mer iodurée étant connue, il devenait utile d'examiner les Phéophycées après un séjour en présence d'iodure de potassium. C'est

ainsi que nous avons pu après ce traitement observer une légère émission d'iode chez le *F. platycarpus* ; au contraire les espèces suivantes se sont montrées inactives même après le passage à l'iodure, ce sont : *Halydris siliquosa, Himanthalia lorea, Chorda filum, Saccorhiza bulbosa, Alaria esculenta.*

Il est donc permis de croire qu'il existe réellement des algues brunes inactives, ou tellement peu actives que la méthode employée est insuffisante à le manifester. Quant aux algues Phéophycées actives on peut affirmer que les phénomènes d'émission d'iode qu'elles présentent sont exactement comparables, à l'intensité près, à ceux que nous avons décrits chez les Laminaires.

Chez toutes les algues présumées peu actives il y aura intérêt à procéder à une ioduration préalable selon la technique que nous avons indiquée. L'iodure de potassium, employé de préférence jusqu'ici, n'est pas le seul iodure qui puisse remplir ce rôle. C'est ainsi que, dans des essais sur l'*Ascophyllum nodosum*, l'iodure de calcium et l'iodure de magnésium en solution au millième dans l'eau de mer ont donné les mêmes résultats que l'iodure de potassium ; nous avons même noté que l'iodure de calcium avait une action particulièrement énergique.

Ce rôle remarquable des iodures est encore souligné par une expérience que nous avons faite sur le stipe de *L. Cloustonii.* On sait que le stipe de cette Laminaire se présente sur une partie de sa longueur avec une surface rugueuse qui se montre complètement inactive dans les conditions ordinaires. Or après contact avec l'iodure de potassium pendant un quart d'heure, la base à épiderme chagriné d'un *L. Cloustonii* volatilise légèrement de l'iode ; par conséquent la transformation subie par l'épiderme dans la région rugueuse ne lui enlève pas tout pouvoir iodogène, ou du moins le laisse sensible à l'action des iodures.

II

FLORIDÉES

La connaissance de l'iodovolatilisation chez les Floridées est une acquisition toute récente. En effet les premières observations avaient montré qu'un certain nombre d'espèces se comportent négativement à ce point de vue. Plus tard nous avons reconnu, absolument par hasard, que des échantillons de *Gracilaria multipartita* recueillis à Roscoff en octobre bleuissaient spontanément le papier bristol lorsqu'on les plaçait sous presse pour les préparer. Nous avons recherché immédiatement si les espèces voisines ne se comportaient pas de même : le *Gracilaria confervoides*, si abondant dans les flaques à fond de sable à mi-marée, n'a pas donné tout d'abord de résultat, tandis que de jeunes pousses de *Calliblepharis jubata* provenant de Duon ou de Roch Illiévec donnaient quelques taches bleues sur le papier.

A cette époque d'ailleurs nous venions de reconnaître l'effet de renforcement que provoque un bain d'iodure, aussi avons-nous profité de cette circonstance pour traiter les Floridées fraîches dont nous disposions et d'abord les Gracilariées par une solution d'eau de mer iodurée [9].

Après un séjour d'un quart d'heure dans l'eau de mer iodurée à 1 p. 1000 le *Gracilaria multipartita*, puis le *Calliblepharis jubata*, ont présenté une iodovolatilisation beaucoup plus forte que dans les conditions naturelles. Ces algues après un bain ioduré et lavage dans l'eau de mer sont placées directement sur un papier bristol et il n'est pas nécessaire de les soumettre à une pression pour observer assez rapidement, là où il y a eu contact avec le papier, des taches bleues plus ou moins étendues.

Cette méthode a permis en outre de déceler des propriétés

iodogènes chez le *Gracilaria confervoides* et même chez le *Chondrus crispus* qui, jusque là, s'étaient montrés inactifs.

Ces résultats permettaient déjà de supposer l'existence de l'iodovolatilisation chez ces algues, à moins qu'il ne fut possible d'assimiler les Gracilariées et le *Chondrus crispus* aux algues pourvues d'ioduques comme les Bonnemaisoniées, et ceci nous amène à parler de ces Floridées et de leurs caractères.

On sait depuis Golenkin [15] et Robertson [25] que le *Bonnemaisonia asparagoides* teint fortement en bleu le papier sur lequel on le prépare (1). Une observation analogue est due à C. Sauvageau qui montre que l'*Asparagopsis Delilei* récolté à Ténériffe colore aussi énergiquement le papier en bleu [26].

Plus tard les observations de Golenkin sont refaites par Kylin qui vérifie que l'iode chez le *Bonnemaisonia* est mis en liberté au niveau de cellules spéciales à contenu réfringent qu'il nomme « blasenzellen ». Il signale chez une autre espèce le *Trailliella intricata* Batters, la présence de « blasenzellen » à contenu iodé, mais, alors que chez le *Bonnemaisonia* l'iode est mis en liberté par une légère action extérieure (traumatisme, compression entre lame et lamelle, froissement), ou par la nécrose spontanée, chez le *Trailliella* l'iode n'est libéré que par l'action d'un acide [18].

Les observations plus récentes de Sauvageau ont fait connaître deux algues iodifères nouvelles, les *Asparagopsis armata* Harv. et *Falkenbergia Doubletii* Sauv. qui jouissent des mêmes propriétés que le *Bonnemaisonia*, c'est-à-dire que l'on y rencontre des cellules à vacuoles réfringentes (désignées par Sauvageau sous le nom d'ioduques), au voisinage desquelles il apparaît de l'iode libre sous l'effet d'une légère intervention étrangères [27].

Ces algues comme le *Bonnemaisonia* bleuissent le papier

1. A condition que le papier employé soit sensible à l'iode naturellement.

sur lequel on les prépare ; froissées entre les doigts dans un linge, elles le bleuissent fortement ; si on les place dans une goutte d'empois d'amidon entre lame et lamelle et que l'on donne un choc brusque sur la lamelle, on voit apparaître une tache bleue au point frappé. Chez ces algues il n'a pas été montré, aussi nettement que pour le *Bonnemaisonia*, que l'iode libre était produit au niveau des ioduques [27].

Il est bon de remarquer que, d'après Sauvageau, les filaments de *Falkenbergia Doubletii* frais, placés dans une goutte d'empois d'amidon entre lame et lamelle en évitant le dessèchement ne déterminent pas de coloration bleue, même après une heure de contact. Il résulte au contraire des observations de ce même savant que la coloration bleue, donc le dégagement d'iode libre n'apparaît qu'à la suite de la destruction des ioduques provoquée, soit par le contact de l'eau distillée, soit par l'action de l'eau de mer où la proportion de sel marin est doublée, soit par un choc ou un traumatisme quelconque.

Les Floridées à ioduques ont été l'objet également des recherches de Chemin qui ont porté sur les espèces suivantes recueillies à Roscoff : *Bonnemaisonia asparagoides*, *Falkenbergia Doubletii* et *Asparagopsis hamifera*. Chemin s'est attaché à montrer que l'émission d'iode libre par ces algues est toujours causée par une intervention extérieure qui provoque une altération des cellules. C'est ainsi que des fragments de *Bonnemaisonia*, placées dans un filtrat d'empois d'amidon en évitant tout écrasement ne provoquent aucun bleuissement, même au bout de douze heures. Quelquefois le bleuissement apparaît au bout de deux ou trois heures, mais cette coloration, toujours localisée, est l'indice d'une altération. L'auteur fait les mêmes observations avec le *Falkenbergia* et l'*Asparagopsis hamifera* [2, 3].

Les causes qui provoquent la sortie d'iode libre sont variées : meurtrissure, plasmolyse, action de la chaleur, action des anesthésiques et des acides. Chemin attache une importance particulière au rôle des acides et, lorsque ceux-ci

n'interviennent pas directement, comme dans le cas des meurtrissures, il admet que la sortie d'iode est le résultat d'une réaction *post mortem* provoquée par l'acidité du suc cellulaire.

Tout dernièrement H. Kylin s'est occupé d'un *Falkenbergia* récolté à Banyuls, le *F. Hillebrandii* et de son pouvoir émetteur d'iode libre. Notons tout d'abord que, malgré la différence de nom spécifique, la plante de Banyuls est identique à celle de Guéthary et des côtes bretonnes [20].

Nous retiendrons d'abord de cette étude que, chez cette algue, la vacuole réfringente iodée fait partie d'une cellule spéciale qui a subi une évolution particulière et s'est transformée en un réservoir iodé. L'ioduque dérive donc tout entier d'une cellule et ne constitue pas une vacuole particulière d'une cellule normale, cas analogue à celui du *Trailliella* et du *Bonnemaisonia* et il est intéressant de trouver ainsi une origine histologique analogue à diverses « blasenzellen ».

Chez le *Falkenbergia* de Banyuls Kylin a montré que les cellules vivantes ne bleuissent pas, même à la longue, l'empois d'amidon : « nur die abgetöteten zellen färbten die Stärkelösung blau » et c'est seulement après la mort des cellules que l'iode libre apparaît. Il insiste sur ce fait, comme sur l'un des résultats importants de son travail, que les cellules vivantes n'émettent pas d'iode libre [20].

Pour conclure, on voit qu'il résulte des observations concordantes de Sauvageau, Chemin et de Kylin que les Floridées dites « à ioduques » n'émettent pas d'iode libre à l'état vivant ; la production d'iode libre observée chez ces algues coïncide toujours avec une altération cellulaire. Cette altération peut être due à des causes variées, au premier rang desquelles il faut citer les acides qui agissent même à l'état dilué.

Les faits précédents peuvent être considérés comme bien établis, puisque l'accord est complet à leur sujet entre les chercheurs. Il n'en est pas de même en ce qui concerne la

nature des produits iodés des cellules et même leur localisation chez ces algues.

L'existence d'iode libre dans les ioduques est une première opinion, due à Sauvageau [27, 28], qui a l'avantage de rendre compte facilement de certaines expériences, mais qui n'a pas rallié jusqu'à présent l'unanimité des suffrages.

Il n'est nullement nécessaire, indique Kylin, d'admettre l'existence d'iode libre dans les ioduques pour expliquer les diverses manifestations dont les Bonnemaisoniées sont le siège ; il n'est même pas nécessaire d'y supposer l'existence d'un composé iodé labile, puisqu'il suffirait qu'un corps oxydant agisse en milieu acide sur des iodures pour déclancher la mise en liberté d'iode libre [20].

La présence d'iode libre chez les Bonnemaisoniées a été niée par Chemin [3] à la suite de ses expériences ; celui-ci d'autre part conclut à l'existence chez ces algues de composés instables qu'une minime acidité suffit à détruire ; cependant nous venons de voir que la présence de composés de ce genre n'est pas nécessaire pour expliquer le résultat des expériences, puisque dans l'hypothèse de Kylin, il suffit de supposer que les « blasenzellen » renferment un corps oxydant et que ce corps soit mis en contact avec le suc cellulaire acide et riche en iodures des cellules voisines, pour que de l'iode soit mis en liberté immédiatement.

En résumé, suivant l'opinion de plusieurs algologues, il n'est pas démontré que les vacuoles des « blasenzellen » renferment soit de l'iode libre, soit même un composé iodé quelconque. La production d'iode libre, observée au moment de la rupture des ioduques pourrait résulter de la mise en présence à ce moment là des produits nécessaires à la réaction jusque-là contenus dans des cellules distinctes.

Cette hypothèse dont le principe a été formulé par Kylin [20] s'appuie sur certains faits tels que la présence très probable d'iodures dans les vacuoles des cellules avoisinant les ioduques. Le bleu de crésyl fait apparaître en effet dans ces

cellules des bouquets cristallins rouges et, si cette réaction n'est pas caractéristique des iodures, comme nous l'avons montré, elle n'en donne pas moins une indication précieuse et une probabilité en faveur de l'existence d'iodures dans le suc cellulaire chez des algues que l'on sait riches en iode d'autre part.

Plusieurs expériences de Sauvageau montrent également que les *Falkenbergia Doubletü* et les *Asparagopsis armata* peuvent présenter des composés iodés minéraux dans leurs cellules en dehors des éléments particuliers dénommées ioduques.

Au cours d'un séjour à la Station biologique de Roscoff pendant les mois de septembre et d'octobre derniers nous avons récolté le *Falkenbergia Doubletii* qui était très abondant à cette époque sur une grande partie de la côte en particulier à la pointe de Bloscon et à Roch'Ilievec ; cette algue n'avait été signalé jusqu'ici près de Roscoff que sur des produits de dragage par Chemin [3]. Le *Falkenbergia* s'est-il répandu dans la région depuis le séjour de Chemin à Roscoff en 1927 ? Toujours est-il qu'il constituait en septembre-octobre 1928 l'une des Floridées épiphytes les plus communes à marée basse dans les points indiqués plus haut. Il était donc facile de se procurer des algues fraîches recueillies à la main et de les observer au laboratoire moins d'une heure après la récolte (Fig. 19, p. 237).

Au moment où nous faisions ces observations nous pouvions croire que les algues à ioduques étaient capables d'émettre de l'iode libre spontanément, par conséquent qu'elles pouvaient présenter des phénomènes d'iodovolatilisation. Pour essayer de le vérifier nous avons placé les *Falkenbergia* frais sur un papier bristol sensible à l'iode, ou bien entre lame et lamelle dans de l'eau de mer parsemée de grains d'amidon. Or, dans aucun cas, tant qu'il n'y avait pas altération cellulaire, nous n'avons pas vu apparaître le moindre bleuissement. Même après plus d'une heure, si l'on évite le

dessèchement, aucune trace d'iode n'est visiblement mis en liberté dans ces conditions.

On peut donc soutenir, comme l'on fait d'ailleurs Sauvageau, Chemin et Kylin, que la plante fraîche n'émet pas d'iode, avec cette restriction cependant que l'émission d'iode pourrait être trop faible pour être reconnue de cette façon. Au contraire une meurtrissure, l'adjonction d'un acide, provo-

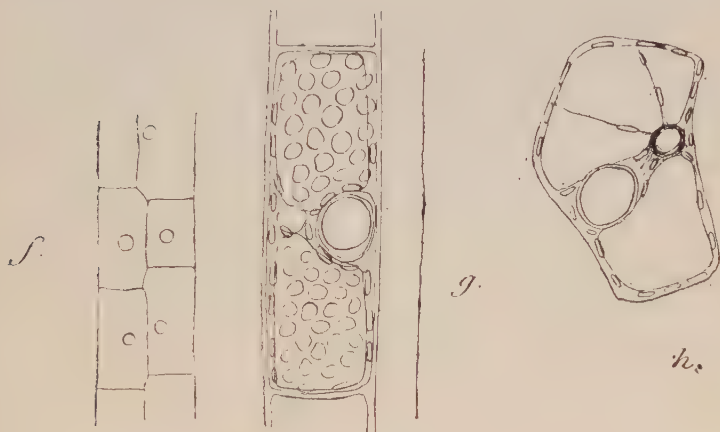


Fig. 19. — *Falkenbergia Doubletii* Sauv. *f*, rameau montrant les cellules péricentrales et les ioduques ; *g*, une cellule péricentrale grossie avec ses plastes, ses grandes vacuoles, son noyau et l'ioduque logé dans sa concavité interne.; *h*, une cellule péricentrale située dans l'angle d'un rameau. Le noyau s'observe au point de départ des travées de protoplasme, l'ioduque du côté interne.

quent sur le champ la production d'iode libre chez le *Falkenbergia*.

Nous avons rencontré en outre à Roscoff une Floridée à ioduques beaucoup plus rare que l'espèce précédente : il s'agit du *Trailliella intricata* Batters qui jusqu'à présent, à notre connaissance du moins, n'avait pas été signalé aux environs de la Station. Il existe cependant parmi les algues de l'herbier Chalon conservées au laboratoire de Roscoff un échantillon de *Trailliella* récolté par Chemin en 1928, quel-

ques semaines avant notre séjour, dans le vivier du Laboratoire.

Le *Trailliella* ressemble assez au *Falkenbergia* ; une seule touffe bien fournie a été rencontrée à Per Haridy le 30 septembre, fixée sur une autre algue. Cette Floridée présentait de nombreux tétrasporanges mûrs ou en voie de formation qui déterminaient des sortes de bosselures sur certains filaments (fig. 20, p. 239). La présence de ces organes est rare chez cette algue. Ces tétrasporanges sont disposés en séries sur les rameaux et leur formation débute par la division dans le sens de la longueur des cellules du rameau : il se forme une cloison courbe qui délimite deux cellules dont l'une reste stérile et l'autre évolue en tétrasporange (Fig. 19 b, e, p. 239). La cellule stérile est souvent détachée tantôt d'un côté, tantôt de l'autre, de sorte que les tétrasporanges en série alternent parfois régulièrement. Les « blasenzellen » sont très nombreuses et se voient même à un faible grossissement. Ce sont de petites cellules placées au niveau de la cloison séparant deux articles ordinaires des rameaux et qui déterminent un léger bombement de la membrane extérieure à cet endroit. Elles alternent généralement et sont situées soit d'un côté soit de l'autre par rapport aux cellules normales. Ces « blasenzellen » correspondent à de véritables cellules qui présentent au début plusieurs rhodoplastes et de très bonne heure une vacuole arrondie, où apparaît une inclusion sphérique de couleur jaune ayant l'apparence d'une goutte de résine. Cette vacuole grossit beaucoup tandis que les plastes se décolorent et disparaissent avec le protoplasme extérieur et sans doute aussi le noyau qui doit exister au début. La vacuole remplie d'un contenu réfringent de couleur jaune-brun est devenue tout à fait comparable à un ioduque de *Falkenbergia* par exemple (Fig. 19, c, d, p. 237).

Kylin a montré que le *Trailliella* ne dégage pas d'iode, même si on laisse la plante mourir dans l'empois d'amidon ; elle bleuit au contraire l'empois acidulé. Nous avons aban-

donné un fragment frais de *Trailliela* pendant deux heures sur un papier sensible à l'iode sans voir apparaître aucune

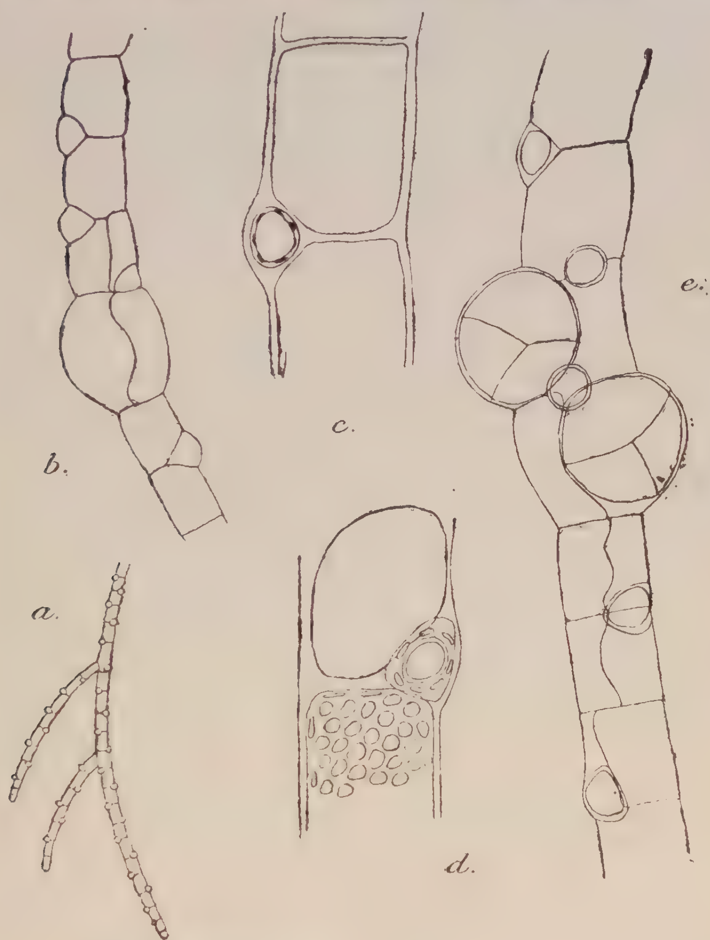


Fig. 20. — *Trailliella intricata* Batt.
a, rameau isolé ; *b*, début de la formation des tétrasporanges ; *c*, *d*, ioduques à différents états dans l'angle de deux cellules du thalle (on voit nettement que l'ioduque correspond à une cellule distincte avec ses plastes) ; *e*, rameau avec deux tétrasporanges mûrs et trois cellules inférieures cloisonnées longitudinalement.

coloration bleue. D'autre part des fragments de cette algue peuvent être écrasés sur le papier sensible sans qu'il se pro-

duise de coloration bleue au contact, mais si l'on ajoute une goutte d'acide chlorhydrique à 5 % la coloration bleue se montre immédiatement.

Une partie des *Trailliella* récoltées le 30 septembre a été conservée au laboratoire et mise à part dans de l'eau de mer renouvelée. Or le 5 octobre un fragment de cette touffe a été placé sur papier bristol sur lequel il n'a donné aucun bleuissement ni par l'action de l'acide chlorhydrique à 5 %, ni même par l'action de l'acide nitré. L'iode combiné avait donc disparu. Cependant une autre partie de la touffe, plus fraîche sans doute, colorait le papier en bleu lorsqu'on ajoutait à l'acide une goutte d'azotile de soude à 20 p. 100 (1).

Le *Trailliella intricata* renferme donc seulement de l'iode combiné, bien que cette algue possède des cellules spéciales dites « blasenzellen » d'apparence analogue aux ioduques des *Falkenbergia*. Il n'y a donc pas d'iode libre chez le *Trailliella*, mais cette algue, lorsqu'elle est fraîche, dégage immédiatement de l'iode par l'action d'un acide. Ce fait indique peut-être que cette Floridée renferme un composé iodé instable, mais il n'est nullement nécessaire de faire cette supposition, car le *Trailliella* pourrait ne renfermer que des iodures et un corps oxydant mis en liberté par la rupture des cellules.

Il est possible maintenant d'interpréter les faits concernant les Floridées à iodovolatilisation et de les comparer à ceux qui s'observent chez les algues à ioduques.

Dans de nouvelles expériences sur les Floridées, réalisées à Quiberon à la fin de décembre 1928, nous avons pu dégager les principaux caractères de l'iodovolatilisation chez ces algues et trouver un lot de nouvelles espèces actives.

Nous avons pu tout d'abord éliminer toute influence de

1. Ces faits de disparition de l'iode combiné chez le *Trailliella* après un séjour en aquarium, observés par nous en octobre à Roscoff, viennent d'être signalés par Chemin pour la même algue récoltée en mars (Comptes Rendus, t. 188, p. 1624, 1929). Quant à l'absence de combinaison iodée pendant les mois d'août et de septembre, observée par Chemin chez le *Trailliella*, nous venons de voir que ce n'est pas un fait général et il est donc prématuré d'en tirer des conclusions.

pression et même de traumatisme dans l'observation d'une émission d'iode chez le *Gracilaria confervoides* et chez le *Calliblepharis jubata.* Ces deux algues, sur lesquelles nous expérimentions moins d'une heure après la récolte, ont présenté les faits suivants : une touffe de *Gracilaria confervoides* a été placée encore humide d'eau de mer sur une feuille de papier bristol et abandonnée telle quelle pendant quelques minutes ; au bout de cinq, dix minutes, ou un quart d'heure suivant les expériences, quelques taches bleues ont été observées sur le papier en déplaçant les filaments de l'algue. Dans cet exemple, l'émission d'iode paraît bien avoir un caractère spontané, puisqu'il n'y a pas eu compression d'aucune sorte et il est difficile de croire que les taches bleues proviennent de légers traumatismes préexistants et qui auraient échappé à l'examen (1).

La même expérience réussit parfaitement avec des frondes fraîches de *Calliblepharis jubata,* mais elle est peut-être plus démonstrative encore que chez le *Gracilaria,* parce que les fragments de fronde plate du *Calliblepharis* s'appliquent facilement d'eux-mêmes sur le papier ; il est plus facile alors de repérer exactement l'emplacement des taches bleues qui apparaissent et de s'assurer qu'elles ne correspondent pas à des lésions du thalle.

Il nous semble donc qu'on est en droit de parler chez ces deux algues d'une émission spontanée d'iode par la plante vivante et nous avons vu précédemment qu'aucune des algues à ioduques ne se comporte de cette façon.

D'autres caractères accentuent encore les différences entre ces Floridées : c'est que ni le *Gracilaria confervoides* ni le *Calliblepharis jubata* ne dégagent d'iode lorsqu'on les écrase au contact d'un papier bristol ; si, alors, on ajoute une goutte d'acide, il n'y a pas bleuissement ; une goutte d'acide mouil-

1. Ces algues d'autre part se maintenaient humides pendant la durée de l'expérience : elles ne pouvaient donc pas subir d'altération par dessèchement.

lant la plante fraîche ne provoque pas non plus de sortie d'iode. Or toutes les Floridées à ioduques, sauf le *Trailliella*, dégagent de l'iode par écrasement et le *Trailliella* le fait par l'action d'un acide.

Les Gracilariées contiennent pourtant de l'iode en assez grande abondance, mais celui-ci se trouve certainement à l'état combiné : un fragment de ces algues fraîches placé sur papier bristol et traité successivement par l'acide sulfurique à 5 % et le nitrite de soude à 20 % bleuit légèrement le papier, mais cette réaction est inconstante, soit que tous les fragments ne soient pas également riches, soit que l'iode existe sous forme de combinaison non déplacée par le réactif.

Les *Gracilaria multipartita* et *confervoides* et le *Calliblepharis jubata* sont jusqu'à présent les Floridées dont l'émission d'iode spontanée est la plus active. Ce sont des algues appartenant à deux genres très voisins rangés dans le même groupe des Gracilariées. Ces dernières font partie elles-mêmes de la famille des Sphærococcacées dont les principales formes connues sur nos côtes sont les *Sphaerococcus*, *Gracilaria*, *Calliblepharis*, *Hypnea*. Chez toutes ces Floridées on peut supposer que l'on retrouvera des propriétés iodogènes plus ou moins marquées ; elles font partie de l'ordre des Rhodyméniales.

Le *Chondrus crispus* est une autre espèce à iodovolatilisation qui appartient au groupe des Gigartinées. Dans la même section se placent les *Dilsea edulis*, *Gigartina mamillata* et *G. pistillata*. Le *Chondrus crispus* est classé d'autre part dans la famille des Gigartinacées où l'on rencontre, en dehors des algues précédemment énumérées, les *Phyllophora* (*P. rubens*, *membranifolia* etc.), *Stenogramma*, *Gymnogongrus*, *Callophyllis*, *Callymenia*, *Meredithia*. Plusieurs de ces algues ont manifesté des propriétés iodogènes analogues à celles du *Chondrus crispus* : ce sont les *Phyllophora*, *Gigartina* et *Gymnogongrus*.

Enfin une famille voisine, celle des *Rhodophyllidacées* avec

les genres principaux *Cystoclonium, Catenella, Rissoella, Rhodophyllis, Solieria* a fourni jusqu'à présent une espèce à iodovolatilisation le *Solieria chordalis*.

En dernière analyse les espèces suivantes de Floridées ont présenté des phénomènes d'iodovolatilisation plus ou moins activement :

Gracilaria multipartita
Gracilaria confervoides
Calliblepharis jubata
Chondrus crispus
Gymnogongrus plicatus
Gigartina mamillata
Gigartina acicularis
Phyllophora rubens
Solieria chordalis.

Parmi ces espèces il faut faire une distinction : celles qui sont le plus actives ont bleui le papier, comme nous l'avons dit, par simple contact et sans être pressées ; ce sont les *Gracilaria confervoides* et le *Calliblepharis jubata*. Quelques autres ont dû, pour que le même résultat soit atteint, être maintenues au contact d'un papier sensible durant un certain temps par une compression légère, ce sont les *Gracilaria multipartita, Chondrus crispus* et *Gigartina acicularis* ; pour les deux dernières espèces nous n'avons obtenu par ce moyen que quelques taches bleues très limitées (1); le *Gigartina acicularis* frais émet de très faibles quantités d'iode qui rendent l'expérience aléatoire et, dans tous les cas, il faut beaucoup d'attention pour que la production d'iode ne passe pas inaperçue. Il en est de même dans certains cas pour le *Chondrus crispus* et c'est en raison de cette circonstance que nous avions d'abord citée cette algue comme inactive.

1. D'autre part ce résultat obtenu à Quiberon en décembre n'a pas pu être renouvelé à Roscoff en mars.

Les autres espèces actives, *Gymnogongrus plicatus, Gigartina mamillata, Phyllophora rubens* et *Solieria chordalis* n'ont montré un dégagement d'iode qu'après séjour d'un quart d'heure dans de l'eau de mer iodurée à 1 p. 1000. L'iodure de potassium a montré en effet une action favorisante très nette sur l'iodovolatilisation des Floridées et il agit en cela exactement comme sur les Laminaires et sur les Fucacées. L'iodure agit d'ailleurs sur toute les Floridéees citées plus haut et il n'agit pas seulement sur les algues pour lesquelles il représente le seul moyen de mettre en évidence l'émission d'iode.

Les *Gracilaria*, les *Calliblepharis* frais, traités par l'eau de mer iodurée, puis lavés rapidement dans l'eau de mer dégagent fortement de l'iode libre, apparemment sur toute la surface des frondes. Il suffit de placer ces algues sur un papier bristol, encore humides, pour obtenir rapidement un décalque en bleu des régions du thalle qui sont en contact avec le papier.

Le *Chondrus crispus* et le *Gigartina acicularis* après un traitement identique présentent une iodovolatilisation nettement renforcée. Quant aux *Gigartina mamillata, Phyllophora, Solieria,* même après séjour dans l'eau de mer iodurée, ils se montrent peu actifs et il est nécessaire de les maintenir avec soin au contact du réactif au moyen d'une compression légère. Même avec ces précautions les taches bleues obtenues sont limitées ; chez le *Phyllophora rubens* seules les extrémités jeunes des pousses ont bleui le papier sur une petite longueur, ailleurs nous n'avons pas observé de localisation particulière de l'émission d'iode. Le *Solieria chordalis* qui est une algue de profondeur n'a été recueilli qu'à l'état d'épave ; il a cependant montré une légère iodovolatilisation après ioduration et il paraît probable que l'algue fraîche se montrerait plus active. Le *Solieria* se rencontre d'ailleurs parfois à très basse mer sur la côte du Morbihan, comme nous l'avons vu parfois et il sera facile dans l'avenir de se rendre compte plus exactement de ses propriétés iodogènes.

Le nombre de Floridées qui sont connues maintenant pour leur iodovolatilisation est donc relativement élevé, mais il est extrêmement probable que d'autres genres et d'autres espèces s'ajouteront à notre liste provisoire. Il y a en effet beaucoup d'espèces de *Phyllophora*, *Gigartina*, *Gracilaria* chez lesquelles on trouvera vraisemblablement de l'iodovolatilisation.

On pourrait même se demander si la plupart des Floridées ne sont pas capables d'émettre de l'iode plus ou moins. Il est naturellement difficile de se prononcer sur les cas hypothétiques d'émission infinitésimale d'iode, mais il est possible de citer un certain nombre d'algues qui, même après traitement par l'eau de mer iodurée, ne présentent aucune trace d'iodovolatilisation dans les conditions de nos expériences.

Comme il faut envisager une influence de la station et de l'époque de la récolte qui est certaine, quoique encore mal définie, nous citerons les Floridées suivantes qui, à Quiberon en décembre n'ont pas bleui le papier après ioduration d'un quart d'heure.

Ce sont :

Polyides rotundus
Gelidium sesquipedale
Chondrus norvegicus
Gymnogongrus Griffithsiae.

Pour les deux dernières espèces les essais n'ont porté que sur un petit nombre d'échantillons et nous ne leur attribuons pas une valeur absolue, parce que ce sont des algues dont le rôle négatif est douteux *a priori*.

Enfin à Roscoff en octobre des touffes de *Scinaia furcellata* fraîches n'ont pas bleui le papier ni directement, ni après traitement par l'eau de mer iodurée. D'autres espèces telles que *Dumontia filiformis*, les *Delesseria hypoglossum*, *sanguinea*, les *Nitophyllum laceratum*, *punctatum*, les *Grateloupia-*

filicina, les *Ceramium*, *Callithamnium*, *Polysiphonia*, *Laurencia* et *Griffithsia* divers, les *Chylocladia ovalis*, *Kaliformis*, le *Champia parvula*, toutes récoltées à Roscoff en septembre-octobre 1928, n'ont pas bleui le papier bristol sur lequel elles ont été préparées. Même le *Dilsea edulis* et le *Gigartina Teedii* n'ont pas bleui le papier dans ces conditions, mais il faudrait essayer sur ces algues diverses l'effet de l'eau de mer iodurée qui permettrait peut-être de déceler une faible iodovolatilisation chez quelques-unes d'entre elles ; elles sont peut-être d'ailleurs actives à certaines périodes de l'année seulement.

L'influence de la station, peut-être celle de l'âge des algues, de leur état de végétation, résulte d'observations réalisées à Roscoff à la fin de mars. Le *Gracilaria confervoides*, si abondant à l'automne précédent, était devenu assez rare dans ses stations habituelles ; le *Calliblepharis jubata*, au début de sa pousse en octobre présentait par contre en mars un développement luxuriant ; ces algues montraient une activité iodogène assez faible qui n'a pu être mise en évidence sans ioduration préalable, comme c'était le cas à Quiberon.

Un fait nouveau s'est présenté chez le *Calliblepharis jubata*, la localisation de certains points bleus au niveau de blessures préexistantes du thalle ; par contre des blessures récentes provoquées sur la fronde n'ont pas été le siège d'une émission d'iode. Avec le *Gracilaria confervoides* il n'en a pas été tout à fait de même : d'abord, l'algue traitée un quart d'heure par de l'eau de mer iodurée au millième, puis lavée à l'eau de mer, a émis de l'iode abondamment tout le long des filaments, donnant naissance à des taches bleues continues. L'émission est spontanée et s'observe lorsque le *Gracilaria* est simplement posé sur une feuille de papier bristol. L'influence de blessures préexistantes est donc absolument à écarter dans ce cas.

Les Floridées suivantes recueillies à la même époque à Roscoff n'ont pas présenté d'iodovolatilisation même après ioduration préalable ce sont :

Cystoclonium purpurascens
Callophyllis laciniata
Delesseria sinuosa
Nitophyllum Hilliæ
Polysiphonia atro-rubescens
Polysiphonia urceolata
Polysiphonia elongata.

En poursuivant la comparaison entre les Floridées à iodovolatilisation et les Floridées à ioduques nous avons systématiquement recherché l'effet des acides sur ces deux catégories d'algues.

Il est très satisfaisant d'opérer comme il suit : un fragment des algues fraîches est placé sur un papier bristol dans une goutte d'acide sulfurique à 5 % et l'on observe s'il se produit un dégagement d'iode dans ces conditions. On sait qu'avec les algues à ioduques, quelles qu'elles soient, il se produit toujours dans ce cas une immédiate et forte émission d'iode. Au contraire les Floridées suivantes qui sont des algues à iodovolatilisation n'ont jamais bleui le papier, même faiblement dans ces circonstances, ce sont les *Gracilaria confervoides*, *Calliblepharis jubata*, *Chondrus crispus*, *Gigartina acicularis*,*Phyllophora rubens* et cette proprité se retrouverait, sans doute, chez les autres *Gracilaria* et *Girgartina*, chez les *Gymnogongrus* et les *Solieria.*

Il y a donc là un caractère différentiel important entre les algues du type des Bonnemaisoniées et les algues du type des Gracilariées. Cependant il est nécessaire de préciser que la valeur de ce caractère est tout de même relative, puisque nous savons qu'un fragment de Laminaire fraîche traité par un acide seul dégage un peu d'iode à sa périphérie. Il ne faudrait donc pas prétendre que l'action d'un acide permet de différencier à coup sûr une algue à ioduques d'une algue qui volatilise de l'iode ; ce qui est exact c'est que cette action établit une distinction valable jusqu'à présent pour les Floridées.

Avec les Fucacées il est rare que l'action d'un acide seul mette de l'iode en liberté : nous l'avons observée seulement dans certains cas avec l'*Ascophyllum nodosum* qui, traité par l'acide sulfurique à 5 p. 100, colore parfois le papier sensible en bleu. Si ces algues se comportent ainsi, c'est parce qu'elles contiennent à l'état frais dans leur écorce périphérique une proportion assez forte d'iode facile à libérer. Si un fait analogue se présente chez les autres Fucacées et chez les Gracilariées, c'est-à-dire si ces algues renferment un peu d'iode labile périphérique, celui-ci est sans doute peu abondant, de sorte qu'il passe inaperçu au moment du traitement par un acide.

Il ne faut pas oublier non plus que, chez les algues à iodovolatilisation, l'action d'un acide dilué est complexe, puisqu'elle peut, au moins chez les Laminaires et si le temps de contact est court, déclencher une réponse des cellules vivantes de l'assise iodogène et une émission d'iode que nous avons considérée comme étant encore vitale. Il se pourrait donc tout aussi bien que l'on trouve des Floridées qui se comportent de cette même façon.

Dans les expériences précédentes sur les Floridées, lorsqu'on ajoute après l'acide une goutte de nitrite de soude à 20 p. 100, on obtient dans certains cas une tache bleue plus ou moins intense, quelquefois très fugace. Chez les algues les moins riches en iode, les *Chondrus*, *Phyllophora*, *Gigartina*, l'expérience ne réussit pas à coup sûr ; elle est surtout très aléatoire avec le *Gigartina acicularis* où la coloration n'a été obtenue qu'une seule fois. Au contraire avec les Fucacées, le *Pelvetia canaliculata*, et surtout avec l'*Ascophyllum nodosum*, l'expérience réussit presque toujours sur des fragments d'algues fraîches. C'est ici l'occasion de rappeler que Molisch [24] a décelé la présence de l'iode chez un certain nombre d'algues marines à Helgoland par une méthode analogue, mais en se servant de l'empois d'amidon au lieu de papier réactif. Parmi les Phéophycées, en dehors de certains *Fucus*, de l'*Ascophyllum* et des *Laminaria flexicaulis* et *saccharina*

qui réagissent fortement, Molisch signale les *Cladostephus verticillatus* et *C. spongiosus*, le *Desmarestia aculeata*, l'*Halydris siliquosa* qui donnent un résultat positif d'une façon plus ou moins intense : ce sont des observations que nous n'avons pas eu jusqu'à présent l'occasion de vérifier pour les dernières espèces.

Les Rhodophycées assez nombreuses qui ont été traitées de la même façon n'ont fourni aucune trace d'iode, sauf le *Plumaria elegans*. Parmi les espèces qui n'ont pas réagi positivement nous relevons dans la liste donnée par Molisch les *Delesseria*, *Ceramium rubrum*, *Callithamnium corymbosum*, *Chondrus crispus*, *Gymnogongrus plicatus*. Pour ces deux dernières Floridées nous avons vu que notre méthode permet d'obtenir un résultat positif avec certains échantillons, mais non en toutes circonstances. Il semble donc que l'emploi d'un papier réactif soit aussi favorable que celui de l'empois d'amidon et ne diminue pas la sensibilité, dans la recherche microchimique de l'iode. Nos expériences sur d'autres espèces complètent d'autre part les précédentes en certains cas : ainsi en ce qui concerne le *Pelvetia canaliculata* les *Gracilaria multipartita* et *G. confervoides*, les *Phyllophora rubens*, *Gigartina mamillata* et *G. acicularis*, l'iode peut être reconnu par la voie microchimique, comme nous l'avons montré.

Il serait naturellement désirable d'obtenir des précisions sur la nature des composés iodés et la teneur en iode de ces diverses algues, ce qui ne serait pas spécialement difficile sans doute, étant donné que plusieurs d'entre elles peuvent être facilement récoltées en quantités importantes.

L'existence d'iodures est probable (1), aussi avons nous recherché quelle pouvait être l'action du bleu de crésyl sur les cellules périphériques de quelques Floridées qui volatilisent de l'iode : deux espèces ont été particulièrement sou-

1. Des iodures ont été signalés par van Itallie chez le *Chondrus crispus* [21].

mises à l'action d'une solution de bleu de crésyl dans l'eau de mer, les *Gracilaria confervoides* et *Calliblepharis jubata*.

Chez la première de ces algues les cellules périphériques des frondes renferment des vacuoles réfringentes assez grandes qui fixent facilement le bleu de crésyl et prennent une teinte bleue ; leur contenu ne précipite pas d'ordinaire et, lorsqu'il se forme à la longue des précipitations dans ces vacuoles, ces dernières sont colorées en bleu et ne présentent pas l'aspect cristallin. Chez le *Calliblepharis jubata*, les cellules épidermiques des frondes examinées de face chez la plante fraîche ne montrent aucune cellule dont la vacuole puisse être assimilée à un ioduque. Après coloration vitale au bleu de crésyl, les cellules périphériques montrent assez vite des précipitations à l'intérieur des vacuoles. Ces corps précipités sont très petits, il y en a d'ailleurs plusieurs d'ordinaire dans une même cellule et ils n'ont aucunement l'aspect cristallin, d'autre part la coloration de ces précipitations est bleue, parfois d'une nuance très foncée et presque noire.

Le bleu de crésyl en coloration vitale ne fait donc pas apparaître de cristaux rouges dans les cellules périphériques du thalle chez des Floridées qui présentent l'iodovolatilisation. D'après ce que nous avons vu précédemment il faut en conclure non que ces cellules sont dépourvues d'iodures, mais que les iodures, s'ils existent, ne sont pas à l'état concentré. Il apparaît que la formation de cristaux rouges dans le suc cellulaire, à la suite d'une coloration vitale au bleu de crésyl, n'est pas un caractère nécessaire des cellules iodogènes, ce qui revient à dire que les cellules iodogènes ne contiennent pas obligatoirement des iodures concentrés.

RÉSUMÉ DES PRINCIPAUX RÉSULTATS

Il y a environ un an nous faisions une première observation sur le dégagement d'iode par les *Fucus vesiculosus.* Ces algues avaient produit des taches bleues multiples pendant les premières heures du dessèchement sur du papier bristol.

A cette époque l'intérêt du fait en lui-même était certain, mais cependant il paraissait vraisemblable qu'il s'agissait d'un phénomène accidentel, provoqué sans doute par la compression ou par quelque traumatisme.

Il a fallu de nombreuses expériences pour s'assurer que la production d'iode libre chez les *Fucus* avait un caractère essentiellement vital. C'est à cette émission d'iode libre par les cellules vivantes que nous avons donné le nom d'*iodovolatilisation.*

L'exemple des Laminaires riches en iode qui se comportent comme les *Fucus*, mais avec bien plus d'intensité, permettait d'autre part de préciser et d'établir sur des bases solides cette nouvelle notion.

Pour se rendre compte du caractère nouveau et inattendu de l'iodovolatilisation il est nécessaire de rechercher s'il existe des termes de comparaison parmi les faits connus de la Chimie et de la Physiologie végétale.

Or les végétaux ne nous ont pas accoutumés à des phénomènes de cette nature. Il y a bien les diverses manifestations excrétoires qui retiennent d'abord l'attention : sécrétions d'essences, de parfums, rarement de composés minéraux par les organes des plantes, sécrétion de diastases, de toxines, de pigments, de substances diverses par les végétaux inférieurs;

ou bien, si l'on n'envisage pas seulement l'émission en dehors du corps de la plante, sécrétions diverses dans le suc cellulaire des vacuoles, dans les laticifères, dans les canaux sécréteurs.

Dans tous ces exemples la plante fabrique des composés plus ou moins complexes qui sont éliminés au cours du fonctionnement vital. Parfois un corps simple est mis en liberté dans ces conditions, mais il n'est pas émis au dehors, c'est le cas du soufre chez les Sulfo-bactériacées.

Il est douteux que l'on puisse établir un rapprochement entre ces différents phénomènes un peu hétéroclites et l'iodovolatilisation. Il vaudrait mieux à notre avis comparer l'émission d'iode spontanée des algues au dégagement d'oxygène qui se produit sous l'influence de l'assimilation chlorophyllienne.

Cependant, si l'on songe que le rôle de la lumière n'a pas été montré jusqu'à présent pour l'iodovolatilisation, la place de ce phénomène dans le métabolisme des algues est actuellement difficile à préciser et il est peut-être prématuré d'établir des hypothèses à ce sujet. Les mesures d'intensité du dégagement de l'iode montrent que l'iodovolatilisation est très forte en période d'émersion, et qu'elle diminue fortement sur les Laminaires immergées. Elle se poursuit cependant, suivant toutes probabilités, sur les algues recouvertes de plusieurs mètres d'eau. On entrevoit l'existence de phénomènes d'équilibre qui règlent le débit de l'iode suivant les conditions extérieures et suivant l'état des réserves combinées des tissus.

L'iodovolatilisation est due à l'activité des cellules vivantes comme nous l'avons démontré et, si cette circonstance n'apporte pas une explication, elle pose au moins la question sur son véritable terrain qui est celui de la Physiologie. Il est établi que les cellules iodogènes des Laminaires sont le siège d'un délicat mécanisme qui a pour résultat la production d'iode libre aux dépens des iodures des tissus. Ce mécanisme, comme la plupart des actions vitales, est

influençable par les actions extérieures qui agissent directement sur le protoplasme (traumatismes, chaleur, anesthésiques, agents chimiques). L'action des blessures est particulièrement remarquable et peut être prise comme exemple d'un phénomène réflexe.

L'émission d'iode libre se produisant normalement et habituellement chez la plante vivante, doit être considérée comme ayant un caractère spontané : elle a lieu en dehors de tout choc, de tout contact et de toute pression sur le tissu iodogène et elle se présente comme une propriété absolument normale des cellules épidermiques vivantes des Laminaires. Elle existe chez les algues connues déjà pour leur richesse en iode combiné spécialement chez les Laminaires (*L. saccharina, L. flexicaulis, L. Cloustonii, L. Lejolisii*) et son intensité paraît être en raison directe de la teneur en iode.

L'iodovolatilisation, de même que la haute teneur en iode ne s'applique qu'à certaines catégories d'algues brunes et rouges. Chez les premières l'activité est limitée aux Fucacées et Laminariacées ; chez les secondes elle se rencontre dans les familles des Sphaerococcacées, Gigartinacées, Rhodophyllidacées.

Dans un même genre d'algues plusieurs espèces sont actives chez les *Laminaria*, les *Fucus*, les *Gracilaria*. Les diverses espèces d'un même genre sont d'ailleurs inégalement actives et le *Fucus platycarpus* est doué d'une iodovolatilisation très faible qui n'a pu être reconnue jusqu'ici qu'au moyen du procédé de l'ioduration.

D'une manière générale il est possible de classer les algues à volatilisation d'iode par ordre d'activité décroissante à partir des Laminaires et le bas de l'échelle est occupé par des algues auxquelles il faut fournir des iodures artificiellement pour rendre appréciable leur pouvoir d'iodogénèse. Ce résultat ne peut pas être atteint avec une algue quelconque et beaucoup de Floridées et de Fucacées ont été mises à l'essai vainement.

Toutes les algues à iodovolatilisation sont très sensibles à l'action de l'iodure de potassium sous forme d'eau de mer iodurée. A la dose convenable l'iodure favorise considérablement l'émission iodée des algues. Cet effet semble prouver que les iodures sont réellement dans les conditions naturelles la source du dégagement d'iode libre ; cette idée trouve un appui dans les colorations vitales au bleu de crésyl qui sont une indication de l'existence d'iodures dans l'écorce périphérique des stipes de Laminaires.

Les iodures existent dans les cellules extérieures corticales des Laminaires à l'état concentré, comme l'indique la formation rapide de cristaux rouges par le bleu de crésyl en coloration vitale. En outre il existe probablement un principe oxydant dans la même région, puisque l'action d'un acide seul suffit à provoquer une émission d'iode au niveau de l'écorce périphérique, tandis que plus profondément le même fait n'a pas lieu, bien que les cellules soient également riches en iodures.

Il paraît plus naturel d'admettre l'existence d'un composé oxydant accompagnant les iodures, plutôt que de supposer la présence d'un composé iodé labile inconnu.

La localisation des composés iodés a été précisée au moyen d'une méthode particulière principalement dans les stipes des *L. flexicaulis*, *L. Cloustonii*, et *L. Lejolisii*. Un fait général est la forte accumulation de l'iode dans les tissus périphériques des stipes et des frondes ; il faut noter aussi l'abondance de l'iode dans les tissus de la base et du sommet des stipes, la relation qui semble exister entre la haute teneur en iode des tissus et leur activité vitale.

La localisation dans la région moyenne des stipes varie avec les différentes espèces et avec leur âge, elle dépend aussi de la saison et nous avons observé une disparition remarquable de l'iode profond des stipes chez les Laminaires de Roscoff à la fin de l'été.

Les résultats qui avaient été obtenus avant nos recher-

ches sur la répartition des composés iodés dans les stipes de Laminaires étaient très limités et d'autre part ils étaient en partie erronés par suite de l'emploi de méthodes imparfaites comme celle du bleu de crésyl dont nous avons montré les défectuosités.

Il a été nécessaire ensuite d'établir la comparaison entre les phénomènes d'iodovolatilisation et les faits présentés par les Floridées « dites à ioduques », dont la connaissance est ancienne, mais dont l'intérêt a été renouvelé par les travaux de Kylin et Sauvageau. L'opinion à laquelle nous sommes arrivé est qu'il s'agit de phénomènes fort différents malgré leur ressemblance apparente.

Les algues qui iodovolatilisent émettent de l'iode « *in vivo* » et spontanément, ce qui n'a pas lieu chez les Floridées à ioduques qui ne dégagent de l'iode libre que par suite d'une altération ou par l'action d'un traumatisme, d'un agent chimique, surtout d'un acide (Chemin). Enfin les algues à ioduques possèdent des cellules spéciales à vacuoles réfringentes, qui, au dire de tous les auteurs, jouent un rôle important dans le dégagement d'iode *post mortem* ; de pareilles cellules sont absentes chez les Laminaires, les *Fucus* et les Gracilariées.

Comme autres différences entre ces deux catégories d'algues on peut citer que l'iodovolatilisation est une émission d'iode parfois très intense et prolongée (Laminaires) : c'est un véritable phénomène physiologique durable, tandis que l'émission d'iode observée chez les Floridées à ioduques correspond à une brusque sortie en quantité limitée chez une plante endommagée.

L'émission d'iode libre qui peut avoir lieu chez ces deux sortes d'algues dans des conditions en apparence identiques ne doit pas faire illusion et laisser croire à l'identité des phénomènes. Dans un cas, celui de l'iodovolatilisation, l'iode est émis par la cellule vivante et normale par suite d'un mécanisme inconnu jusqu'à présent, dans le cas des algues

à ioduques l'iode n'est émis qu'après la rupture des cellules l'attaque d'un acide et la mise en contact d'éléments divers qui s'y trouvaient renfermés.

Malgré l'étendue relative de ce Mémoire notre connaissance de l'iodovolatilisation demeure incomplète. Bien des faits restent obscurs et s'ils peuvent être considérés en eux-mêmes comme acquis à la science, leur raison d'être demeure entourée d'incertitude. Il n'y a pas là trop sujet de s'étonner, car la vie des algues marines et spécialement celle des Laminaires, plus que celle d'autres végétaux, abonde en particularités peu explicables jusqu'ici. Si nous n'avons pas apporté toute la clarté souhaitée, nous avons du moins la satisfaction d'avoir fait connaître un nouveau mode d'activité vitale dont l'importance ne saurait être contestée.

Dans l'avenir c'est surtout du côté des mesures quantitatives qu'il faudra orienter les recherches. Il sera nécessaire également de préciser l'action des divers facteurs que l'on peut mettre en jeu et tout particulièrement l'influence de l'oxygène qui doit « *a priori* » jouer un rôle important. Ces préoccupations pourraient aboutir à la découverte d'une nouvelle catégorie d'actions oxydasiques. Ce travail apporte donc des résultats positifs et il fait entrevoir de nouvelles et nombreuses perspectives de recherches.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. CHADEFAUD (M.). — Contribution à l'étude de quelques éléments morphologiques des cellules chez les Algues de mer (*Le Botaniste*, XVIII, I-VI, p. 155-168, 1927).
2. CHEMIN (E.) et LEGENDRE (R.). — Observations sur l'existence de l'iode libre chez *Falkenbergia Doubletii* Sauv. (Comptes rendus Ac. Sc., t. 183, p. 904. Paris, 1926).
3. CHEMIN (E.). — Sur l'état de l'iode chez quelques Floridées (*Rev. génér. de Bot.*, t. XL, Paris, 1928).
4. DANGEARD (Pierre). — Sur le dégagement d'iode libre chez les algues marines (Comptes rendus Ac. Sc., t. 186, p. 892, Paris, 1928).
5. — Sur les conditions du dégagement de l'iode libre chez les Laminaires (Comptes rendus Ac. Sc., t. 186, p. 1371, Paris, 1928).
6. — Contribution à la connaissance du cycle de l'iode chez les algues marines (*Le Botaniste*, sér. XX, fasc. III, p. 69-115, 1928).
7. — Sur l'iodovolatilisation chez les algues septentrionales (Comptes rendus Ac. Sc., t. 187, p. 879, Paris, 1928).
8. — Notes au sujet de l'émission d'iode libre par les algues (*Bull. Soc. Bot.*, t. 75, p. 509-519, 1928).
9. — Action favorisante de l'iodure de potassium sur l'iodovolatilisation (Comptes rendus Ac. Sc., t. 187, p. 1156, 1928).
10. — Sur l'évolution de l'iode chez les Laminaires. Réponse à M. Freundler (*Bull. Soc. Bot. Fr.*, t. 75, p. 980-986, 1928).
11 DAVIS (A. B.). — Enzyme action in Marine Algae (Annals of the Missouri Bot. Gard. 2 : 771-836, 1915).
12. FREUNDLER (P.). — Introduction à l'étude des complexes biologiques, (Paris, 1928).
13. — Sur l'évolution de l'iode chez les Laminaires (*Bull. Soc. Chimie Biol.*, X, n° 8, 1928).
14. GAUTIER (A.). — L'iode dans l'eau de mer (Comptes rendus Ac. Sc., t. CXXVIII, p. 1069, 1899).
15. GOLENKIN (M.). — Algologische Notizen (*Bull. de la Soc. impér. des natur. de Moscou*, nouv. sér., t. 8, 1894).
16. KARRER (Joanne). — Micrometabolism of Nereocystis (Puget Sound Mar. St Pub., vol. I, n° 21, 1916).
17. KYLIN (Harald.). — Untersuchungen über die Biochemie der Meeresalgen (*Zeitschr. f. Physiol. Chemie*, p. 337-425, 1915).
18 — Über die Blasenzellen einiger Florideen und ihre Beziehung zur Abspaltung von Iod (*Arch. f. Botanik*, t. 14. Stockholm, 1915).

19. Uber die Blasenzellen der Florideen (*Botanisk Notiser* Lund, 1927.
20. — Uber *Falkenbergia Hillebrandii* und ihre Beziehung zur Abspaltung von Iod (*Botanisk Notiser*, p. 233-254. Lund, 1928).
21. ITALLIE (L. VAN). — Uber das Vorkommen von Iodium in Fucus vesiculosus und Chondrus Crispus (*Arch. d. Pharm.* Reihe 3, Bd 27, Halle, 1899).
22. MANGENOT (G.). — Sur la signification des cristaux rouges apparaissant sous l'influence du bleu de crésyl, dans les cellules de certaines Algues (Comptes rendus Ac. Sc., t. 186, p. 57, Paris, 1928).
23. — Sur la localisation des iodures dans les cellules des Algues (*Bull. Soc. Bot. Fr.*, 75, 5-6, p. 519-540, 1928).
24. MOLISCH (H.). — Microchemie der Pflanzen, 2e éd. Iena, 1921.
25. ROBERTSON (D.). — Bonnemaisonia asparagoides C. Ag. that gave a blue stain to paper (Trans. nat. hist. soc. of Glasgow, Bd 4, 1894).
26. SAUVAGEAU (C.). — A propos des Cystoseira de Banyuls et de Guéthary (*Bull. de la St. biol. d'Arcachon*, t. 14, 1912).
27. — Sur quelques Algues Floridées renfermant de l'iode à l'état libre (*Bull. St. Biol. Arcachon*, t. 22, p. 3-43. Bordeaux, 1925).
28. — Sur le *Fucus lutarius* et sur l'iode libre de certaines Algues (*Ibid.*, t. 24, 1927).
29. — Un dernier mot sur les ioduques et les bromuques (*Ibid.*, t. 25, 1928).
30. TUNMANN (O.).— Uber das Iod und den Nachweiss desselben in der Laminaria (Pharm. Zentralh., 1907, XLVIII, p. 505).
31. — Planzenmicrochemie. Berlin, 1913.

PLANCHES HORS TEXTE

PLANCHE XVII

Laminaria flexicaulis (Roscoff, mars 1929).

Les figures de cette planche représentent les images grandeur naturelle de répartition de l'iode, obtenues sur des coupes transversales de stipe au moyen de notre méthode (comme réactif l'acide nitré). Seules les figures de la ligne inférieure représentent le détail anatomique visible à l'œil nu sur les coupes fraîches de stipes.

Chaque ligne horizontale correspond à un même exemplaire de *L. flexicaulis* coupé à différents niveaux qui sont de gauche à droite pour chaque colonne verticale : 1° le haut du stipe au contact de la lame ; 2° le haut du stipe à une distance de 5 à 20 cm. de la lame, suivant la taille des Laminaires ; 3° le milieu du stipe ; 4° la base, à une distance des crampons variant de 5 à 20 cm. suivant la taille : 5° la base au voisinage immédiat des crampons. Pour certains specimens trois ou quatre de ces niveaux seulement ont donné lieu à une figure de répartition. L'état de développement des échantillons a été évalué approximativement par la longueur des stipes.

A. — *L. flexicaulis* (lg. stipe 0 m. 25) récolté à Roscoff le 23 mars, traité le 23.

B. — *L. flexicaulis* (lg. stipe 0 m. 30) récolté à Roscoff le 23 mars, traité le 23.

C. — *L. flexicaulis* (lg. stipe 0 m: 40) récolté à Roscoff le 25 mars, conservé en bac, traité le 28.

D. — *L. flexicaulis* (lg. stipe 0. m 60) plante jeune de couleur claire, récoltée à Roscoff le 25 mars, conservée en bac, traitée le 28.

E. — *L. flexicaulis* (lg. stipe 0 m. 70) récolté à Roscoff le 26 mars, conservé en bac, traité le 28.

F. — *L. flexicaulis* (lg. stipe 0 m. 90) récolté à Bloscon (Roscoff) le 25 mars, traité le 25.

G. — *L. flexicaulis* (lg. stipe 0 m. 90) récolté à Perharidy (Roscoff) le 24 mars, traité le 24.

H. — *L. flexicaulis*, même exemplaire que celui figuré en F. Images anatomiques observées directement à l'œil nu sur les coupes fraîches.

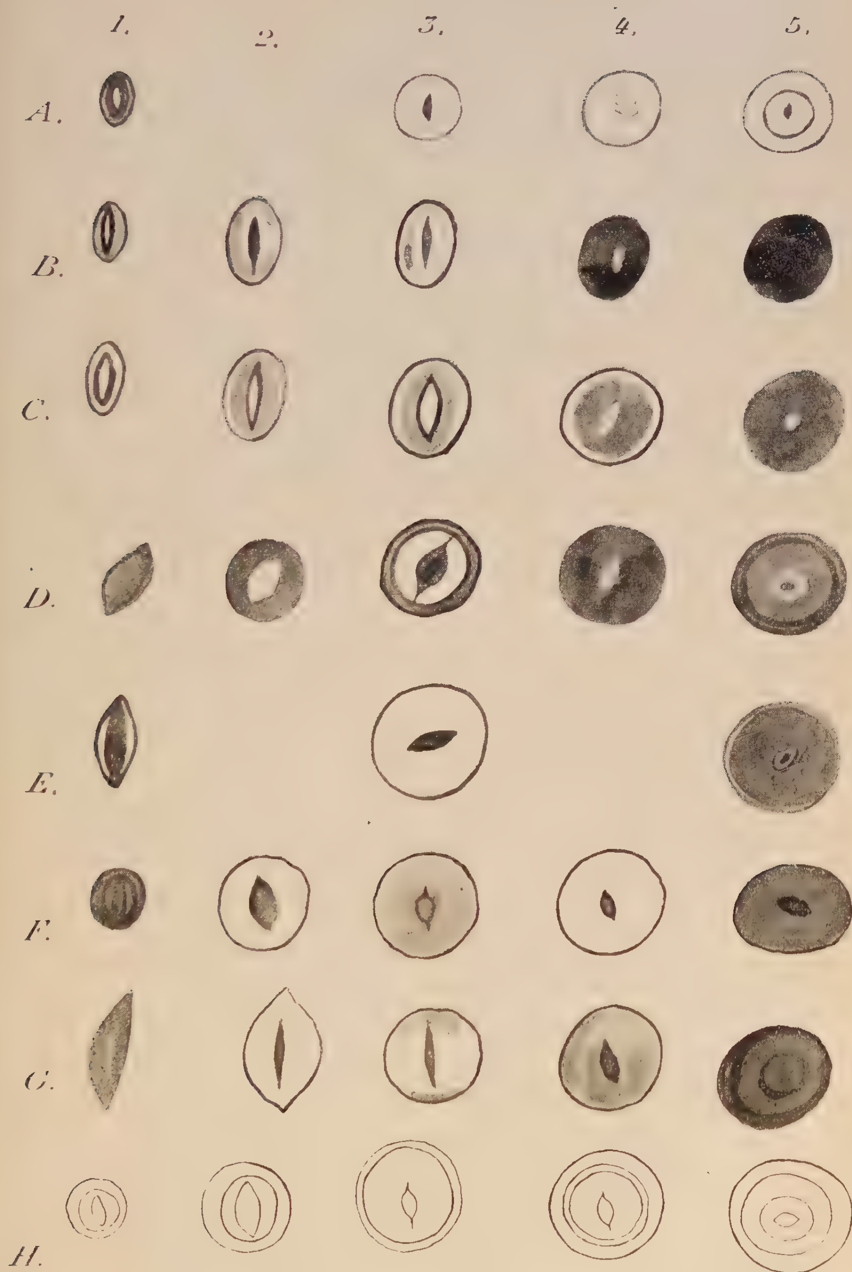

1.
2.
3.
4.
5.
A.
B.
C.
D.
E.
F.
G.
H.

PLANCHE XVIII

Laminaria Lejolisii Sauv. (Roscoff, mars 1929).

La disposition d'ensemble des diagrammes est la même que dans la planche précédente.

A. — *L. Lejolisii* (long stipe 0 m. 25) récolté à Perharidy (Roscoff) le 23 mars, traité le 23.

B. — *L. Lejolisii* (lg. stipe 0 m. 30) récolté à Bloscon (Roscoff) le 25 mars, traité le 25.

C. — *L. Lejolisii* (lg. stipe 0 m. 50) récolté à Bloscon (Roscoff) le 25 mars, traité le 25.

D. — *L. Lejolisii* (lg. stipe 1 m. 20) récolté à Bloscon (Roscoff) le 26 mars, conservé en bac, traité le 27.

E. — *L. Lejolisii* (lg. stipe 1 m. 20) récolté à Bloscon le 26 mars, conservé en bac, traité le 29.

F. — *L. Lejolisii*, même exemplaire que *B*; figures anatomiques observées sur coupes fraîches.

G. — *L. Lejolisii*, même exemplaire que *D*; figures anatomiques observées sur coupes fraîches.


1.
2.
3.
4.
5.
A.
B.
C.
D.
E.
F.
G.

PLANCHE XIX

Laminaria Cloustonii, L. Lejolisii, L. flexicaulis.

La disposition d'ensemble des figures est la même que dans les planches précédentes ; il s'agit partout de diagrammes de répartition de l'iode (obtenues avec l'acide nitré, sauf pour la série horizontale *D* qui représente des images anatomiques obtenues sur coupes fraîches.

A. — *L. Cloustonii* (lg. stipe 0 m. 50) récolté à Roscoff le 25 mars, traité le 25.

B. — *L. Cloustonii* (lg. stipe 0 m. 50) récolté à Roscoff le 26 mars, traité le 27.

C. — *L. Cloustonii* (lg. stipe 0 m. 70) récolté à Roscoff en épave le 23 mars.

D. — *L. Cloustonii*, même exemplaire que *C* ; figures anatomiques observées sur coupes fraîches.

E. — *L. Cloustonii* (lg. stipe 0 m. 50) récolté à Duon le 1er octobre, traité le 1er.

F. — *L. Lejolisii* (lg. stipe 0 m. 35) récolté à Ti Sao Son le 2 octobre, traité le 2.

G. — *L. flexicaulis* grand, récolté à Ti Sao Son le 2 octobre, traité le 3.

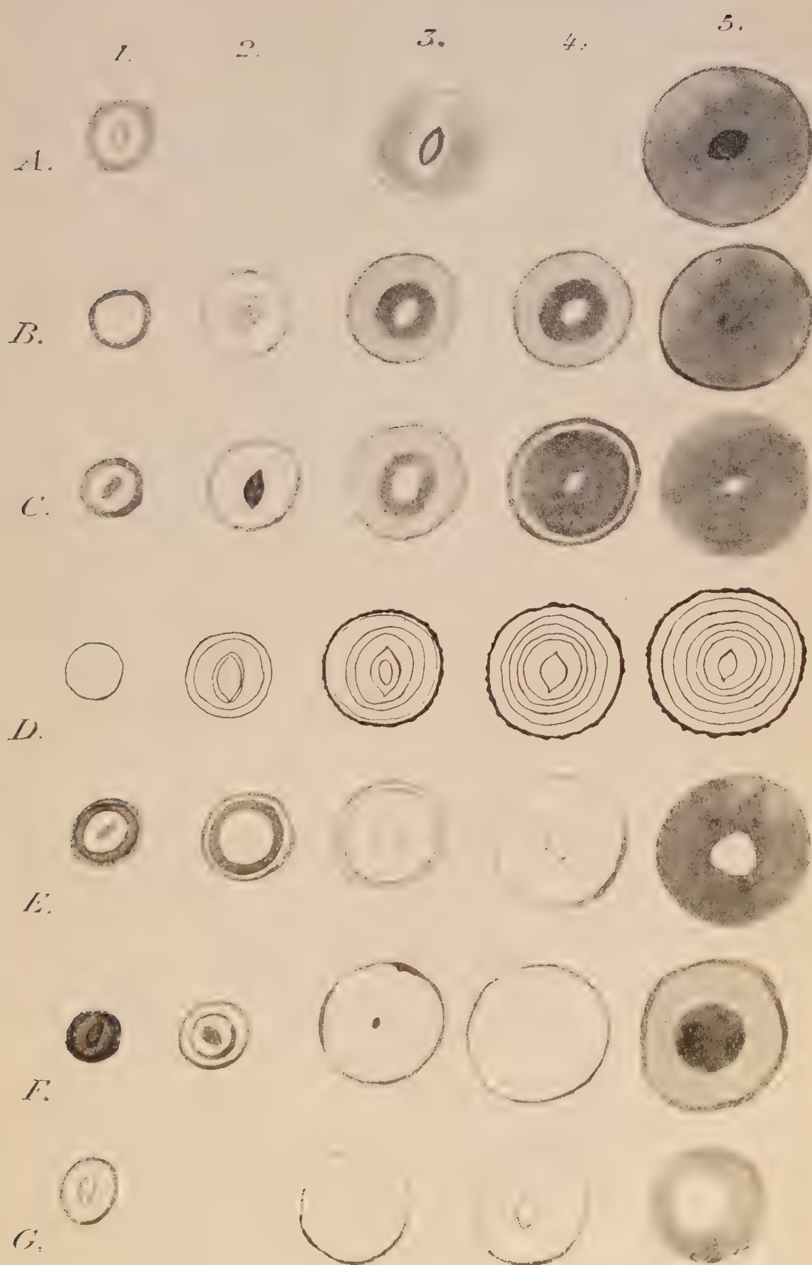

1.
2.
3.
4.
5.
A.
B.
C.
D.
E.
F.
G.

TABLE DES MATIÈRES

DEUXIÈME PARTIE

Le Gérant : P. A. Dangeard.

368. — Imprimerie Jouve et Cie, 15, rue Racine Paris. — 7-1929.

Sur un *Spirogyra* (*Sp. fluviatilis* Hilse) fixé, pérennant, se multipliant par marcottage et par propagules

Par A. de Puymaly.

Le *Spirogyra fluviatilis* Hilse se trouve décrit pour la première fois dans l'exsiccata de L. Rabenhorst intitulé « Die Algen Europa's », où figurent, sous le n° 1476, les échantillons découverts par Hilse en 1862 dans un ruisseau de Silésie. Quelques années après, L. Rabenhorst, utilisant les mêmes matériaux, en donna lui-même une diagnose plus détaillée. Cette espèce est une des rares Conjuguées dont le thalle vit normalement fixé à la surface d'un substratum. Ce caractère et la présence de 3 ou 4 chromatophores dans chaque cellule permettent de la reconnaître facilement à l'état végétatif, sans qu'il soit besoin de la posséder à l'état de reproduction sexuée, condition qui est habituellement indispensable lorsqu'on veut déterminer un *Spirogyra* avec précision. Dans la nature, d'ailleurs, on la trouve rarement fertile et ce fait a été noté par les quelques auteurs qui ont eu l'occasion de la récolter. Ainsi Paul Petit, dans sa remarquable monographie des « *Spirogyra* des environs de Paris », parue en 1880, écrit à ce sujet (p. 27) : « A aucune époque de l'année, nous n'avons rencontré cette espèce en conjugaison ; nous n'avons pas été plus heureux que les observateurs qui nous ont précédé ».

Les échantillons recueillis par Artari en 1884 dans un étang situé au sud de Moscou, ne montraient également aucune

trace de conjugaison. Celle-ci a été vue et figurée pour la première fois en 1887, par Francis Wolle sur des exemplaires récoltés dans des mares des prairies de la Pensylvanie.

O. Borge, quelques années plus tard, a eu l'occasion de rencontrer cette espèce dans le Birs, petit affluent du Rhin, où elle croissait fixée sur des pierres. Ayant constaté qu'elle formait très facilement des rhizoïdes dans certaines conditions, il l'a surtout étudiée à ce point de vue. Il l'a cultivée de plusieurs façons et dans des solutions de composition très variée afin de mettre en évidence les causes qui déterminent la production des rhizoïdes. Il a constaté notamment que ces organes se développaient très rapidement d'une manière à peu près constante lorsque l'Algue était cultivée dans de l'eau ordinaire entre lame et lamelle ou en goutte pendante, tandis que ces mêmes organes faisaient presque toujours défaut lorsque le thalle était, par un dispositif convenable, maintenu en suspension dans le liquide de culture (eau ordinaire, etc...) et ne touchait pas les parois du récipient. Il a ainsi montré le rôle des actions de contact dans la formation des rhizoïdes. Il a revu la conjugaison et les zygospores observées par Francis Wolle, mais les quelques stades fertiles qu'il a eus sous les yeux ont été obtenus dans des solutions de culture (sol. d'asparagine et sol. de glycérine) et il déclare que dans la nature il n'est « jamais parvenu à trouver cette espèce en fructification, malgré les nombreuses récoltes » qu'il a faites.

Collins, dans son excellent ouvrage sur les Algues vertes de l'Amérique du Nord, nous apprend que cette espèce a été également récoltée dans le Massachusetts et que les spécimens fixés sur des pierres étaient toujours stériles ; seuls, les spécimens flottants ont montré des zygospores.

Des observations précédentes, il ressort donc que le *Sp. fluviatilis*, dans les conditions de vie normale, c'est-à-dire lorsqu'il est fixé sur un subtratum, se maintient à l'état végétatif et ne forme pas de zygospores. Ce fait, qui ne semble

pas avoir attiré suffisamment l'attention des auteurs, donne cependant à penser que la conservation et la dissémination de l'espèce se trouvent assurées par des moyens autres que la reproduction sexuée. C'est ce que j'ai eu, en effet, l'occasion de constater sur des plantes récoltées aux environs de Bordeaux, dans un vaste bassin, dont l'eau se renouvelle lentement. Dans une note récente, j'ai montré que, dans cette station, l'Algue se multiplie normalement par marcottage à l'aide de cellules spéciales, placées au sommet des filaments. La présente publication a pour but d'étudier d'une manière plus détaillée ce curieux mode de multiplication.

Lorsqu'on examine un thalle de *Sp. fluviatilis* on est tout d'abord frappé par la différence très nette qui existe entre la région supérieure et la région inférieure ou basilaire. Tandis que dans les *Spirogyra* ordinaires toutes les cellules sont équivalentes et possèdent toutes la faculté de se diviser, cette faculté, chez l'espèce en question, se localise dans les cellules de la région supérieure. Ces cellules ont par suite conservé une membrane mince et leur contenu offre, outre un abondant protoplasme, des chloroplastes spiralés bien développés et doués d'une belle teinte verte. Vers la base des filaments, au contraire, les chloroplastes perdent la forme de rubans spiralés ; ils se fragmentent en un certain nombre de tronçons irrégulièrement cylindriques, ratatinés, contractés, surtout dans l'intervalle des amylosphères ; par suite de cette désagrégation des chromatophores, le contenu cellulaire de cette région prend, sur le vivant, un aspect plus ou moins granuleux et une coloration vert pâle légèrement jaunâtre. Le noyau devient en même temps plus distinct. Quant à la membrane, elle commence à s'épaissir et sa surface, cessant d'être lisse, s'écaille plus ou moins et se couvre fréquemment de petits épiphytes, notamment de Diatomées. Cet épaississement de la membrane s'accentue à mesure que l'on se rapproche de la base du thalle et bientôt il y a à peu près

égalité entre l'épaisseur de la membrane longitudinale et la largeur de la cavité cellulaire, qui se trouve, on le voit, considérablement réduite. De tels éléments, séparés les uns des autres par des cloisons transversales également très épaisses, ont ordinairement un contenu homogène jaunâtre ou brun jaunâtre, attestant la décomposition plus ou moins avancée du pigment chlorophyllien. La cellule la plus inférieure, terminale, porte les rhizoïdes : ceux-ci, en nombre variable, sont des évaginations très irrégulières, pourvues d'une membrane très épaisse et d'une lumière presque filiforme.

Le thalle du *Sp. fluviatilis* offre donc une polarité très marquée. Mais ce n'est pas tout. Pendant que la plante est en voie de végétation active, certaines cellules du sommet des filaments cessent de s'accroître, de se diviser et subissent une transformation remarquable. Ces cellules, auxquelles, pour la commodité de l'exposition, je donnerai dès maintenant le nom de « propagules », se renflent, deviennent plus ou moins claviformes ; en même temps, il se produit une contraction des chromatophores dont la teinte se fonce et dont les tours de spire deviennent plus serrés, puis contigus, si bien que finalement tout le contenu cellulaire prend un aspect homogène vert sombre et semble composé d'une multitude de petits granules juxtaposés (fig. 1-4). C'est du moins ce que l'on voit sur le vivant. Mais, lorqu'on examine des préparations fixées et traitées par une solution iodo-iodurée, on se rend compte que la différenciation, dont ces cellules sont le siège, consiste essentiellement en une hyperamylogénèse, autrement dit en une production abondante d'amidon : on voit tout d'abord les pyrénoïdes devenir plus rapprochés, plus nombreux ; puis, leur gaine d'amidon s'épaissit considérablement par l'adjonction de nouvelles particules ; presque en même temps, de l'amidon de stroma commence à apparaître sous forme de granules dans les intervalles compris entre les amylosphères ; ces granules grossissent peu à peu et ne tardent pas à devenir confluents de telle

sorte que les chloroplastes sont bientôt tranformés en cordons irrégulièrement cylindriques, entièrement bourrés d'amidon. Le protoplasme lui-même, qui est devenu plus abondant et plus dense, s'imprègne également d'une fine poussière amylacée. Finalement, tout le contenu cellulaire prend au contact de l'iode une coloration violet noir. Le noyau, situé au milieu de la cellule, conserve cette position pendant toute la durée du processus, auquel d'ailleurs il ne semble pas étranger. De très bonne heure, en effet, les portions de chloroplastes, qui avoisinent immédiatement le noyau, sont complètement remplies d'amidon et se colorent en violet noir sous l'action de l'iode, alors que, au même instant, dans les autres parties de la cellule, les amylosphères sont beaucoup moins épaisses et l'amidon de stroma moins abondant. Dans ce processus d'amylogénèse, par conséquent, la zone périnucléaire est nettement en avance sur toutes les autres régions de la cellule. Le noyau semble donc exercer sur ce phénomène une action stimulante.

Dans chaque filament, c'est habituellement la cellule terminale qui seule se transforme en propagule. Mais il arrive souvent que ce processus d'hyperamylogénèse intéresse plusieurs cellules d'un même filament. Dans ce cas, les cellules qui en sont le siège forment au sommet du filament, une série ininterrompue, dans laquelle chaque élément se trouve ordinairement à un stade de différenciation particulier : c'est toujours la cellule apicale qui offre le stade de différenciation le plus avancé ; puis vient la cellule placée immédiatement au-dessous et ainsi de suite. Il en résulte qu'en examinant de tels filaments, on a d'emblée sous les yeux tous les stades du processus en question. Celui-ci, d'ailleurs, se manifeste rarement dans des cellules intercalaires isolées, comme celle représentée par la fig. 4.

L'état de différenciation acquis par les « propagules » est tel que cet état, si je puis m'exprimer ainsi, est irréversible : autrement dit, ces cellules sont incapables de reprendre l'état

végétatif si, tout en les empêchant de germer, on les maintient dans des conditions favorables à la nutrition et à la croissance. Il m'est arrivé, en effet, de faire l'expérience suivante : des filaments terminés par des propagules bien différenciés étaient mis en suspension dans l'eau d'un aquarium, placé dans un laboratoire dont la température oscillait autour de 10° et devant une fenêtre exposée au nord. Or, dans ces conditions, les propagules ne germaient pas et restaient immuables dans un état quiescent, alors que toutes les autres cellules végétatives montraient des signes d'un vif métabolisme et d'une croissance très active.

Les propagules demeurent donc sans changement tant que les conditions favorables à leur germination ne se manifestent pas. La principale de ces conditions consiste dans une action de contact. Pour germer et produire des rhizoïdes, les cellules en question ont besoin de rencontrer un corps solide, résistant. Si cette rencontre n'a pas lieu, les rhizoïdes en général ne se forment pas, comme le prouve l'expérience suivante : le 9 décembre 1927 furent faites six cultures sur lame qui, dès le 12 décembre, montraient déjà des rhizoïdes, tandis que des filaments propagulifères, provenant du même lot et conservés dans les mêmes conditions d'éclairement et de température (14° à 20°) mais en suspension dans le liquide d'un petit aquarium contenant la même eau que celle employée pour les cultures sur lame, ne fournirent ni à cette date, ni à une date ultérieure, de formations rhizoïdales.

La germination des propagules semble également influencée par la température. Lorsque celle-ci n'est pas suffisamment élevée, la production des rhizoïdes est, sinon complètement supprimée, du moins considérablement entravée.

Ce que je connais de cette germination a été observé sur des plantes mises en culture sur lame. On voit tout d'abord apparaître une grosse dilatation ampullacée, hémisphérique, qui fait saillie sur l'extrémité apicale de la cellule-propagule (fig. 6). Cette ampoule, dont la base est circonscrite par un

léger étranglement annulaire, présente un contenu incolore, très réfringérant, constitué presque uniquement par du protoplasme au sein duquel se trouvent d'abondants microsomes. C'est en général sur cette saillie que prennent naissance les rhizoïdes qui affectent des dispositions assez variées : tantôt cette extrémité dilatée s'allonge et produit un seul rhizoïde très volumineux ; plus fréquemment, elle se bifurque en émettant deux évaginations divergentes ; parfois, enfin, il se forme un plus grand nombre de rhizoïdes irrégulièrement distribués (fig. 7-10). Les rhizoïdes semblent avoir au début une direction quelconque ; mais, en général, ils manifestent bientôt un phototropisme négatif. A mesure qu'ils se développent, des portions de rubans chlorophylliens, ordinairement très grêles, pénètrent dans leur intérieur mais n'envahissent jamais leur extrémité distale qui reste toujours hyaline et riche en protoplasme pendant toute la durée de la croissance (fig. 9 et 10).

Au cours de cette germination, la cellule propagule est le siège de phénomènes importants : on voit peu à peu disparaître l'amidon qu'elle contenait. Cette digestion de l'amidon se fait suivant un ordre inverse de celui qui a présidé à sa formation. Autrement dit, c'est tout d'abord l'amidon de stroma, situé dans l'intervalle des amylosphères, qui est le premier digéré ; autour des pyrénoïdes persiste toujours une gaine amylacée, qui diminue progressivement d'épaisseur, mais qui reste longtemps perceptible jusqu'à un stade avancé de la germination. Cette amylolyse, d'autre part, ne s'accomplit pas au même moment en tous les points de la cellule, mais débute, en général, dans le voisinage du noyau, qui ne cesse d'occuper le milieu de la cellule (1) : dans cette région, en effet, on voit l'amidon de stroma,puis celui de pyrénoïde être

1. Le fait que le noyau reste toujours au milieu de la cellule pendant le développement des rhizoïdes, confirme les recherches de M. R. Chodat et de Mlle Cretier, d'après lesquelles, chez les Algues, la production des rhizoïdes et autres ramifications est en général indépendante de la position du noyau.

désagrégé, corrodé et finalement dissous ; en même temps, les portions de chloroplastes qui leur servaient de support cessent d'être contractées, de ressembler à des cordons irrégulièrement cylindriques ; elles s'étalent à nouveau sou- forme de rubans festonnés comparables à ceux des cellules végétatives. Puis ces phénomènes se propagent dans la partie de la cellule située entre le noyau et l'extrémité en voie de croissance. Par contre, l'autre moitié du propagule semble longtemps sommeiller et son contenu ne perd l'aspect contracté et ses réserves d'amidon qu'en dernier lieu.

Le développement rapide des évaginations qui constituent les rhizoïdes se fait donc aux dépens des réserves amylacées accumulées dans les propagules. Quant aux pyrénoïdes proprement dits, ils se retrouvent toujours intacts à la fin de la germination et il semble par suite difficile de considérer ces corpuscules protéïques comme formés de substance de réserve, hypothèse que certains auteurs ont émise à propos d'autres Algues vertes.

Dans la majorité des cas, les propagules germent avant de s'être séparés de la plante-mère. Si leurs rhizoïdes rencontrent un support convenable et s'y fixent, le filament primitif se trouve attaché par ses deux extrémités à la fois. Que ce filament se rompe en un point, soit accidentellement, soit par gélification de la lamelle moyenne de deux cellules contiguës et on aura deux nouveaux individus complètement indépendants. La plante se multiplie ainsi de proche en proche à la manière d'un fraisier (1). Mais il arrive assez souvent que les propagules ne germent qu'après s'être détachés de la plante-mère. Ces cellules libres peuvent alors être transportées par le courant et servent à la dissémination de l'espèce. Dans ce cas, leurs deux extrémités paraissent équivalentes et toutes deux capables d'entrer en germination,

1. La propriété d'émettre des rhizoïdes appartient également à toutes les cellules végétatives qui peuvent ainsi jouer un rôle important dans la multiplication par marcottage

comme le montre la figure 5, représentant un de ces propagules isolés.

Ceci m'amène à discuter la nature morphologique de ces cellules spéciales que, pour la commodité de l'exposition, j'ai de prime-abord dénommées « propagules ».

Les auteurs qui se sont occupés de la multiplication végétative des Algues vertes rangent habituellement dans un même groupe toutes les cellules, autres que les spores et les zygotes, qui, plus ou moins transformées, jouent un rôle dans cette multiplication. On a ainsi confondu des productions qui, suivant les cas, étaient de nature essentiellement différente. Certaines de ces cellules, en effet, prennent naissance lorsque la nutrition est défectueuse et que la croissance s'effectue mal ou même cesse complètement : elles sont alors l'expression d'une réaction de défense de l'espèce, qui tend à se protéger contre des conditions biologiques défavorables. De telles cellules ont, en général, une membrane épaisse, sont riches en matières de réserve et possèdent ordinairement une capacité de résistance très élevée vis-à-vis de la dessication ; elles constituent la majorité des éléments compris sous les noms de *kystes*, d'*hypnocystes*, d'*acinètes*. Mais, à côté d'elles s'en trouvent d'autres, que l'on range à tort sous les mêmes vocables et qui apparaissent dans des circonstances tout à fait inverses : autrement dit, la plante, au moment où elle les produit, jouit d'une excellente nutrition et est douée d'une croissance exubérante. Ces dernières cellules, qui par certains points de leur constitution morphologique peuvent rappeler les précédentes, sont, à n'en pas douter, d'une autre nature. Entre elles et les acinètes, il n'existe évidemment aucune homologie et il n'est pas raisonnable de les confondre dans un même groupe. Le nom de *propagule*, déjà employé chez les Muscinées et chez maintes Algues marines, paraît être le terme le mieux approprié pour désigner ces derniers éléments. Ceux-ci, en général mal doués pour résister à la dessication, ont en effet pour rôle essentiel

de propager l'espèce pendant la période favorable à son développement.

D'après les considérations qui précèdent, les cellules claviformes du *Sp. fluviatilis* doivent être rangées non dans la catégorie des acinètes, mais dans celle des propagules. Se différenciant au sommet des filaments dans la partie la plus jeune du thalle, c'est-à-dire dans la région où la croissance est la plus active, elles ne cessent de se former pendant toute la belle saison, depuis le printemps jusqu'à l'automne, c'est-à-dire pendant toute la période propice au développement de l'Algue. Durant toute cette période, elles propagent l'espèce d'une façon ininterrompue : seuls, les propagules formés à l'arrière-saison sont incapables de germer pendant l'hiver à cause de la basse température de l'eau et sont obligés de passer quelques mois à l'état quiescent. En 1928, je les ai vus dans la nature commencer à germer dans les premiers jours de février. Mais ces cellules claviformes résistent mal à la dessiccation et périssent presque aussi rapidement que les cellules végétatives ordinaires, lorsqu'elles sont exposées quelques heures hors de l'eau (1).

Le *Spir. fluviatilis* se multiplie donc normalement par marcottage et par propagules. Ces modes de reproduction, inconnus jusqu'à présent chez les *Spirogyra* et même parmi les Conjuguées, distinguent cette plante de toutes les autres espèces du groupe.

Cette multiplication végétative exubérante laisse comprendre pourquoi dans la station où j'ai rencontré cette Algue, celle-ci couvrait une grande étendue, phénomène que la reproduction par voie sexuée ne permettait pas de saisir. Elle explique également pourquoi cette dernière reproduction, par suite d'un balancement physiologique, est en voie

1. Très riches en amidon, les propagules en question, à aucun moment de leur évolution, ne renferment de l'huile, substance qui, chez les Conjuguées, est la matière de réserve habituelle des zygotes et même des acinètes. On se trouve donc ici en présence de cellules d'une nature bien spéciale et d'un type tout différent.

de régression et ne se présente que rarement dans la nature, ainsi que j'ai eu l'occasion de le mentionner au début de ce travail.

Sans doute on peut objecter qu'il existe des *Spirogyra* chez lesquels on n'a pas mentionné d'organes spéciaux de multiplication et où cependant la reproduction sexuée ne se présente que rarement. Tel est le cas notamment des espèces qui vivent dans les eaux courantes : on peut alors penser que l'agitation de l'eau entraîne, au fur et à mesure de leur émission, les substances dégagées par les futurs gamétanges et qui, par action chimiotropique, déterminent la formation et la copulation des tubes de conjugaison. Cette explication renferme évidemment une part de vérité. Mais il n'est pas moins vrai que, chez le *Sp. fluviatilis* en particulier, la production abondante de propagules contrarie notablement l'apparition des cellules sexuelles, car, dans ces deux processus, il y a une forte accumulation de substances de réserve et il semble que si l'un d'eux se produit, l'autre doit nécessairement avorter ou être sérieusement entravé.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

ARTARI (A.). — Liste des Algues observées dans le gouvernement de Moscou (Bull. de la Soc. imp. des Nat. de Moscou, LX, n° 3, p. 124. Moscou, 1884).

BORGE (O.). — Ueber die Rhizoidenbildung bei einigen fadenförmigen Chlorophyceen (Inaug.-Diss., Upsala, 1894).

CHODAT (R.) et CRETIER (Mlle). — Influence du noyau pour la production des ramifications chez les Algues (Arch. des Sc. phys. et nat. de Genève, 4e série, t. XIII, p, 303, 1902).

COLLINS (F. S.). — The green Algae of North America (Tufts College studies, scient. ser., vol. II, n° 3, 1909).

PETIT (P.). — Spirogyra des environs de Paris (Paris, 1880).

PUYMALY (A. de). — Sur un *Spirogyra* fixé, pérennant, se multipliant par marcottage (Compt. rend. Acad. des Sciences, t. 185, p. 1512. Paris, 1927).

RABENHORST (L.). — Flora europaea Algarum aquae dulcis et submarinae, sectio III. Lipsiae, 1868.

WOLLE (F.) — Fresh-water Algae of the United States, 2 vol. Bethlehem, 1887.

PLANCHE XIX *bis*

EXPLICATION DES FIGURES

1-10. *Spirogyra fluviatilis* Hilse, dessiné d'après des matériaux vivants ; le contenu cellulaire est schématisé.

1-3. Trois propagules terminaux adultes, adhérents à la plante mère. Ces propagules diffèrent par leur forme et par leurs dimensions, différences que présentent habituellement les organes de multiplication d'origine végétative, contrairement aux organes de la reproduction sexuée qui ont, en général, une forme et des dimensions constantes.— Gr. 175.

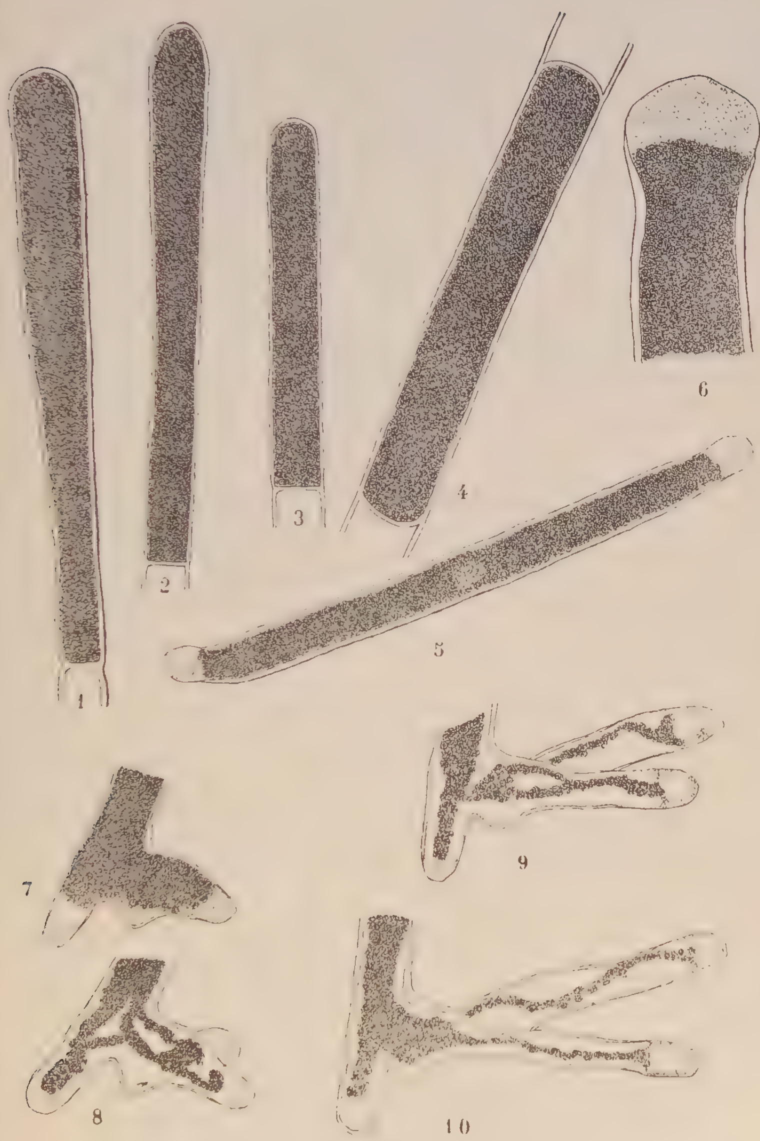
4. Un propagule intercalaire adulte, adhérent à la plante mère.— Gr. 175.

5. Propagule séparé de la plante mère et en train de germer par ses deux extrémités, qui se montrent hyalines et riches en protoplasme ; au milieu de la cellule est une région claire où se trouve le noyau. — Gr. 175.

6. Fragment de propagule dont l'extrémité libre commence à germer sous forme de protubérance hyaline, riche en protoplasme. Germination obtenue en culture sur lame le 2 décembre 1927. — Gr. 361.

7. Le même fragment que dans la fig. 6 vu le 3 décembre 1927 à 10 heures : l'extrémité en voie de germination montre des digitations annonçant la formation des rhizoïdes. — Gr. 180.

8-10. Le même fragment que dans la fig. 6 dessiné successivement le 3 décembre à 15 heures (8), le 4 déc. à 10 heures (9) et le 5 déc. à 10 heures (10). On voit le développement progressif des rhizoïdes dans lesquels pénètrent des chloroplastes rubanés qui se montrent à nouveau, à mesure que les réserves amylacées se résorbent. — 8 et 9 : Gr. 180 - 10 : Gr. 175.



Spirogyra fluviatilis Hilse

NOTES DE VACANCES SUR LES ORGANISMES INFÉRIEURS ET LA QUESTION DU VACUOME

Par P. A. DANGEARD.

INTRODUCTION

Lorsqu'il s'agit de faire ses préparatifs de départ pour la durée des grandes vacances, on hésite quelque peu sur les manuscrits à emporter avec soi ; il existe en effet toujours dans les cartons quelque mémoire que les soucis d'une fin d'année scolaire ont empêché de terminer ; on espère pouvoir l'achever rapidement dans le calme d'un séjour à la campagne.

Cette prévision, en ce qui nous concerne, est rarement réalisée ; cette année encore, deux manuscrits auront fait un voyage de perfectionnement qui s'en retourneront, à notre grand regret, sans avoir reçu la moindre addition ou correction.

Au fond, nous en sommes confus, mais le moyen de faire autrement quand, ayant délaissé la ville, on se trouve, à chaque pas, dans chacune des promenades, en face d'une richesse presque invraisemblable des mares, des fontaines, des ruisseaux en organismes inférieurs; autant vouloir qu'un chasseur épargne un lièvre qui passe à sa portée !

Ce sont donc des observations toutes récentes que nous apportons ; si nous avions tardé davantage à les publier, il est probable qu'elles auraient été oubliées, pour un

temps plus ou moins long, à côté de beaucoup d'autres.

Il ne faut pas demander à ces notes de vacances plus qu'elles ne peuvent donner ; les ressources dont on dispose à la campagne sont nécessairement très limitées et ne permettent pas d'aborder fructueusement certaines questions d'ordre purement histologique ; il n'est guère que le vacuome qui se laisse facilement étudier avec des moyens de fortune ; il suffit d'un peu de rouge neutre pour le mettre en évidence : aussi avons-nous fixé du mieux que nous le pouvions ses caractères chez les organismes contenus dans nos récoltes ; nous préparons ainsi la voie à une étude de l'évolution de cette formation analogue à celle que nous avons autrefois fournie sur l'évolution du noyau chez les organismes inférieurs.

Dans la description du vacuome si particulier des organismes inférieurs, il est difficile de désigner couramment sous le nom de vacuoles proprement dites les sphérules et granulations plus ou moins compactes de métachromatine qui sont disséminées dans le corps et sont en général visibles sur le vivant ; on réservera de préférence le nom de vacuoles à ces corpuscules lorsqu'ils s'hydratent et forment une solution colloïdale.

Nous pensons que ces éléments que l'on a décrits souvent autrefois sous le nom de grains chromatiques, de corpuscules métachromatiques, de grains fuchsinophiles, sans connaître leur origine et la formation à laquelle ils appartiennent, peuvent être avantageusement rangés sous le nom de chromidies ; si ces éléments se trouvent à l'intérieur d'une vacuole ordinaire dont la métachromatine s'est précipitée, on a des *endochromidies*.

On a produit quelques réserves sur l'emploi que nous avons fait de cette expression de chromidie sous le prétexte qu'elle a été appliquée dans le passé à des éléments divers de la cellule (1) : l'objection, en réalité, n'est pas aussi sérieuse

1. Voir : P.-A. Dangeard, Etudes sur le développement et la structure des organismes inférieurs (*Le Botaniste*, série XI, p. 231, 254, 257)

qu'elle le paraît, car il n'est pas douteux que la plupart des éléments auxquels on a appliqué ce terme de chromidie, rentreront tout naturellement dans le vacuome quand on les connaîtra mieux.

Si nous avions pensé autrement, nous aurions proposé les expressions de *chromies* et d'*endochromies*, lesquelles à notre connaissance sont libres de toute attache ancienne : la solution colloïdale contenue dans les vacuoles aurait pris le nom de *chromium*.

Que l'on continue d'employer le mot de *chromidie* ou qu'on lui substitue celui de *chromie*, peu importe au fond : l'essentiel est d'avoir à sa disposition un moyen commode de *caractériser toutes ces granulations ou sphérules que le rouge neutre colore au sein du cytoplasme et qui, malgré leur apparence, font partie du vacuome.*

Nous ferons remarquer le contraste qui existe entre le vacuome des organismes inférieurs et celui de la grande majorité des végétaux : dans ces derniers, l'état de *chromidies* n'existe guère que dans les kystes, les spores et les œufs et aussi, mais à un stade moins condensé, dans les méristèmes. Au contraire, chez les Protophytes, le vacuome ne s'hydrate que rarement : il est à l'état de *chromidies* lesquelles ne se transforment en vacuoles ordinaires que dans des conditions encore mal déterminées : *l'existence de vacuoles contractiles chez les organismes inférieurs est peut-être nécessitée par cette constitution « sèche » de leur vacuome ordinaire.*

Ce Mémoire comprend deux Parties.

La première Partie est divisée en trois Chapitres : le Chapitre I est consacré au genre *Chlamydomonas* dont une espèce, le *Chlamydomonas variabilis* a été l'objet d'une étude approfondie ; le Chapitre II donne la description de deux organismes nouveaux, de nature animale, qui ravagent les cultures du *Chlamydomonas variabilis* ; le Chapitre III fournit quelques détails sur des Chytridinées qui attaquent également les *Chlamydomonas*.

La seconde Partie fait connaître dans le Chapitre IV une association très curieuse qui s'est produite entre une Cyanophycée et une Euglène, tandis que le Chapitre V renferme quelques observations sur le vacuome des Eugléniens.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I

1° LE CHLAMYDOMONAS VARIABILIS

Nous avons décrit, en 1899 (1) sous le nom de *Chlamydomonas variabilis*, une espèce qui avait été rencontrée dans un lavoir alimenté directement par une source ; elle continue de se développer dans cette même station en culture presque pure et nous l'y retrouvons tous les ans pendant la période des vacances.

Cette année, au milieu de septembre, elle est apparue dans une source voisine utilisée pour les besoins de l'alimentation de la maison, en quantité telle que l'eau prise en masse était complètement verte.

Quinze jours auparavant, cette même source avait été envahie aussi brusquement par une culture également pure du *Cryptomonas ovata* : avec ce dernier organisme, l'eau avait pris une teinte noire assez foncée qui avait beaucoup intrigué jusqu'au moment où la nature du phénomène fut connue : une goutte d'eau, prélevée après agitation du liquide et placée sous une lamelle montrait une dizaine d'individus, dans le champ du microscope au grossissement de 1000. Ce qui représente un chiffre formidable de cellules pour un mètre cube d'eau environ.

1. P. A. Dangeard, Mémoire sur les Chlamydomonadinées (*Le Botaniste*, Série VI, 1899).

Il est bon de noter que ces deux envahissements successifs de la source se sont produits malgré un sérieux nettoyage : cette source qui est ferrugineuse, se trouve à l'abri de toute contamination apparente et son usage n'a jamais donné lieu, depuis au moins un demi-siècle, à aucune maladie.

On peut se demander d'où vient l'azote nécessaire à une telle pullulation. Il ne serait pas déraisonnable, à notre avis, de rechercher si ces algues inférieures ne seraient pas capables par hasard d'utiliser l'azote de l'air dissous dans l'eau, surtout lorsque le temps est particulièrement orageux ; toujours est-il que l'eau ainsi chargée en organismes, dégage une odeur *sui generis* qui n'a rien à voir avec celle de la putréfaction.

Le *Chlamydomonas variabilis* appartient au groupe des espèces dépourvues de pyrénoïde : ainsi que nous l'avons fait remarquer autrefois (*loc. cit.*, p. 135), les variations qu'il présente dans sa forme générale, dans la position du noyau, dans les rapports du cytoplasme et du chloroplaste sont très étendues : il y a lieu d'y revenir, à la suite des observations prolongées que nous avons pu faire sur cette espèce des plus intéressantes.

Les figures de la planche XX, consacrées à cette espèce, montrent une diversité très grande dans la forme générale du corps et dans la taille des cellules : la papille sur laquelle s'insèrent les deux longs flagellums manque assez fréquemment : par contre, la position du stigma vers le milieu de la cellule est assez constante.

Le *Chlamydomonas variabilis* est surtout caractérisé par les différents aspects du chloroplaste : théoriquement, ce chloroplaste est un anneau d'épaisseur variable, tapissant la membrane et renfermant à son intérieur cytoplasme et noyau : si le chloroplaste est mince, le cytoplasme est relativement abondant ; si, au contraire, il s'épaissit et tend à envahir une grande partie de la cellule, le cytoplasme se trouve réduit à une zone mince autour du noyau, avec simple trabécule établissant une communication directe avec la base des flagellums

(fig. 9-12, pl. XX) ; mais d'autres modifications se produisent. Ainsi, en général, le chloroplaste, à sa partie interne, montre des échancrures plus ou moins profondes, plus ou moins espacées qui le font paraître lobé : si ces échancrures se prolongent jusqu'à la membrane, elles peuvent ainsi découper le chloroplaste primitif en fragments d'étendue variable et même d'aspects très différents ; à la limite extrême de ces variations qui ne semble atteinte d'une façon complète qu'assez rarement, ce n'est plus un seul chloroplaste que l'on trouve dans la cellule, mais plusieurs (fig. 7, pl. XX) ; l'état moyen est celui d'un chloroplaste découpé en lobes plus ou moins profonds du côté interne.

Il est facile de se rendre compte que cette structure variable du chloroplaste correspond à une disposition également variable du cytoplasme (fig. 9-12, pl. XX).

Le comportement du chloroplaste dans ce *Chlamydomonas* présente un intérêt tout particulier, car on a décrit des espèces dont le chloroplaste est à l'un des stades décrits ici : les *Chlamydomonas mirabilis*, *C. clathrata* et *C. reticulata* ont des chloroplastes irrégulièrement fissurés et trois autres espèces ont leur chloroplaste divisé en fragments distincts : ce sont *Chlamydomonas Serbinowi*, *C. platyrhyncha*, *C. Korschikoffi* (1).

On devra rechercher si, dans ces espèces, le chloroplaste n'est pas susceptible de présenter des variations aussi étendues que celles qui existent, dans le *Chl. variabilis*.

L'abondance d'amidon dans le chloroplaste dépend du moment de la journée où a lieu l'observation : elle dépend aussi beaucoup de l'état des cultures. Après avoir ainsi fourni les principaux caractères du *plastidome* dans cette espèce, nous allons quelque peu insister sur une formation à peine soupçonnée chez les organismes inférieurs, il y a quelques années ; nous voulons parler du *vacuome* ;

1. Pascher, *Die Susswasserflora Deutschlands, Osterreichs, und der Schweiz* Heft 4.1927, p. 305-308.

on n'y connaissait guère alors que les vacuoles contractiles auxquelles s'ajoutaient les vacuoles nourricières du côté des Protozoaires.

Maintenant, avec la nouvelle conception du vacuome que nous avons fait prévaloir, il existe déjà un certain nombre d'observations relatives aux algues inférieures : les premières concernent les *Scenedesmus* (1) ; les autres, faites en collaboration avec Pierre Dangeard, s'étendent à d'assez nombreux genres, *Chlorogonium, Chlamydomonas, Gonium, Eudorina, Volvox, Pediastrum, Chlorella* (2).

L'étude du *Chlamydomonas variabilis* a permis d'ajouter quelques faits nouveaux à ceux qui ont été signalés précédemment. Rappelons d'abord par une citation empruntée à la dernière note, comment se présente le vacuome dans le *Chlamydomonas ovata.* « Si nous soumettons à l'action du rouge neutre ou du bleu de crésyl des individus appartenant à cette espèce, il se produit une coloration foncée de nombreuses sphérules disséminées dans le cytoplasme : ces sphérules sont de taille variable ; elles correspondent à autant de petites vacuoles, contenant une solution colloïdale de métachromatine condensée ; la densité de cette substance qui remplit les vacuoles fait que, sur le vivant et en dehors de toute coloration, ces vacuoles se présentent sous la forme de globules réfringents et non de lacunes au sein du cytoplasme », *loc. cit.*

C'est, en effet, sous l'aspect de petites sphérules réfringentes, plus ou moins nombreuses et disséminées dans le cytoplasme, que se présente d'ordinaire sur le vivant le vacuome dans le *Chlamydomonas variabilis* (fig. 1-3, pl. XX) ; avec un peu d'habitude, on arrive à les distinguer, toujours sur le vivant, d'autres sphérules qui peuvent les accompa-

1. P.-A. Dangeard, Recherches sur l'assimilation chlorophylienne *(Le Botaniste,* 14e Série, 1921, p. 83).
2. P.-A. Dangeard et Pierre Dangeard, Recherches sur le vacuome des algues inférieures *(C. Rendus Acad, Sc.* ,t. 178, p. 1038, 1924).

gner et qui sont des globules oléagineux (fig. 1-4, pl. XX, O).

Que l'on fasse agir le rouge neutre sur les cellules, on constatera le plus facilement du monde, que les sphérules de la première catégorie se colorent en rose d'abord, en rouge plus tard, alors que les globules oléagineux restent incolores ; de telles sphérules colorées par le rouge neutre se voient également, soit dans les sporanges, soit dans les gamétanges ; les gamètes eux-mêmes en possèdent.

Le vacuome peut se présenter également sous une autre forme, sans que nous puissions dire toutefois quelle en est exactement la cause ; les sphérules réfringentes sont remplacées par de véricables vacuoles ordinaires au nombre de trois ou quatre, ou d'une demi-douzaine au plus (fig, 4 et 15, pl. XX) ; ces vacuoles ont un contenu assez liquide, lequel sous l'action du rouge neutre reste homogène ou se précipite en une ou deux endochromidies (fig. 13, 14, pl. XX).

Il nous a paru que la présence de ces vacuoles ordinaires correspondait à l'existence dans les cellules d'une plus grande quantité de globules oléagineux *O*. On doit admettre que ces vacuoles ordinaires proviennent de la fusion de plusieurs sphérules réfringentes ou *chromidies* ; mais la démonstration est difficile à fournir ; on ne peut guère raisonner que d'après ce que l'on sait de l'évolution du vacuome en général.

Le mode de formation de ces chromidies reste lui-même entouré d'obscurité ; car il semble presque impossible de savoir si elles apparaissent quelquefois *de novo* au sein du cytoplasme ou si elles dérivent les unes des autres ; ce qui n'est pas douteux, c'est que les vacuoles ordinaires, par condensation de leur métachromatine sont susceptibles de donner naissance à des endochromidies ; mais ce mode de naissance ne suffit pas à expliquer le très grand nombre de chromidies que l'on rencontre parfois dans une cellule.

L'étude du vacuome, dans cette espèce, nous a permis de faire encore une constatation intéressante.

Dans les cultures, les zoospores ont une tendance à passer

à l'état de repos ; elles perdent leurs flagellums, se contractent en boule ou en cylindre et sécrètent autour d'elles une couche plus ou moins épaisse de mucus, montrant parfois de nombreuses stries concentriques, qui s'étend jusqu'à l'enveloppe externe ; ce sont des aplanospores (fig. 20-23, pl. XX).

Or, au moment où le cytoplasme se contracte, nous avons vu qu'il peut abandonner en dehors de lui, à l'avant, quelques chromidies ou même de petites vacuoles : dans un cas, nous avons vu trois petites vacuoles devenues *externes* ; à l'intérieur de chacune d'elles s'agitait une granulation colorée par le rouge neutre ; c'est là un phénomène assez bizarre.

Ce qui nous a surpris encore davantage, c'est de rencontrer un certain nombre de cellules qui montraient de telles *chromidies* ou de telles *vacuoles externes*, colorables au rouge neutre, dans l'intervalle qui séparait le protoplasma de la membrane (fig. 21-22, pl. XX) ; la présence de ces chromidies externes, tout à fait semblables à celles qui représentent le vacuome à l'intérieur des cellules, méritait d'être signalée ; si quelques chromidies peuvent être directement abandonnées à l'avant du corps lorsqu'il se contracte, on ne saurait attribuer la même origine à toutes celles qui forment une couronne autour de la cellule. Il faut bien admettre qu'il s'est produit une sorte de sortie de la métachromatine interne, sans que l'on puisse indiquer jusqu'ici comment la chose se produit. De toute façon, on a l'impression que l'un des rôles du vacuome est la production du mucus.

Dans ces cellules qui s'arrondissent en se contractant, la substance colorable au rouge neutre s'étale parfois en un arc mal délimité qui se trouve dans l'intervalle entre le protoplasma et la membrane : nous voyons là un passage vers l'état où cet intervalle est rempli d'un mucus à stries concentriques, sur lequel le rouge neutre n'agit plus.

Les chromidies qui constituent avec les petites vacuoles ordinaires, le vacuome des *Chlamydomonas* correspondent à ce que nous nous avons désigné autrefois sous le nom de

grains fuchsinophiles ou grains de chromatine et dont nous avons alors indiqué les principales propriétés à l'égard de quelques méthodes de coloration (*loc. cit.*, p. 172) : nous étions loin de nous douter à cette époque que ces grains représentaient le vacuome des algues inférieures.

La question se pose de savoir si, à côté de ce vacuome et du plastidome, il existe encore dans la cellule quelque chose de comparable à ce que l'on désigne sous le nom de chondriome ou de cytome.

Sans doute, lorsqu'après avoir employé les modes de fixation ordinaire et la coloration à l'hématoxyline ferrique, on rencontre dans le cytoplasma un plus ou moins grand nombre de corpuscules colorés (fig. 9-12, pl. XX), on serait bien tenté d'y voir des cytosomes ; cependant, comme on sait que les chromidies se colorent de la même façon et sont de la même taille, il devient difficile de se prononcer sur l'existence simultanée dans ces cellules du vacuome et du cytome;ce qui peut faire penser que cette dernière formation pourrait bien manquer, c'est que, malgré nos efforts, nous n'en avons vu aucun indice sur le vivant, alors que fréquemment, quand elle existe ailleurs, on réussit à en apercevoir au moins des traces : nous avons aussi été frappé par ce fait que sur les cellules qui possèdent quelques vacuoles avec endochromidies, celles-ci se colorent seules en noir par l'hématoxyline (fig. 13-14, pl. XX) ; si la cellule renferme d'autres globules, ceux-ci restent incolores : ils représentent dans ce cas des globules oléagineux.

Les globules oléagineux appartiennent à la formation que l'on pourrait désigner sous le nom d'*ergastome* : on n'y attache pas d'ordinaire une importance suffisante.

Il est manifeste que, dans les individus en multiplication active, les globules oléagineux, de quelque nom qu'on veuille les appeler, *oléosomes, liposomes* etc. sont absents ou en petit nombre : sur le vivant, on ne les distingue qu'assez difficilement des chromidies, lesquelles sont également quelque peu

réfringentes : on y arrive cependant avec un peu d'habitude.

L'emploi de l'acide osmique constitue encore le meilleur moyen de les reconnaître au milieu des chromidies, non seulement parce que ces globules brunissent ou noircissent sous l'action de ce réactif, mais aussi parce qu'en général, surtout s'ils ont un volume appréciable, ils se déforment plus ou moins et perdent leur contour sphérique.

Ce brunissement ou même ce noircissement après l'action de l'acide osmique qui a parfois valu à ces éléments le nom de corpuscules osmiophiles, n'est pas sans présenter un sérieux inconvénient lorsqu'on emploie la méthode d'Heidenhaim, après un fixateur renfermant de l'acide osmique : il peut très bien se faire qu'on puisse alors dans certains cas, confondre ces corpuscules restés bruns ou noirs du fait de l'osmium avec les chromidies ou les cytosomes eux-mêmes.

Les individus de *Chlamydomonas variabilis* récoltés soit dans le lavoir, soit dans la source, s'ils renfermaient en général beaucoup de chromidies, n'avaient que peu ou point de globules oléagineux (fig. 1-3, pl. XX) ; mais, dans les cultures conservées au Laboratoire, l'*ergastome* prenait une importance plus grande, allant par transition jusqu'à une véritable dégénérescence graisseuse (fig. 16, pl. XX).

Dans cette dégénérescence graisseuse, le chloroplaste prenait divers aspects, en croissant épais, en boule, en cloche : le point oculiforme persistait, mais l'amidon était en voie de disparition complète et les chromidies arrivaient à manquer totalement ; à ce stade, l'intervalle entre le chloroplaste était rempli de gouttelettes d'huile rapprochées les unes des autres ou fusionnées en globules plus gros.

Nous ignorons jusqu'à quel point cette dernière étape de la dégénérescence graisseuse est compatible avec la reprise du développement.

Dans le mémoire déjà ancien que nous avons consacré aux Chlamydomonadinées, nous avions rangé les diverses gra-

nulations rencontrées dans le cytoplasme sous 4 types différents *a, b, c, d,*) *loc. cit.*, p. 169-174).

Le premier type *a* constitué par une fine poussière était considéré comme très probablement dû à un simple précipité de substances protéiques.

Le second type *b* comprenait de petites sphères pressées les unes contre les autres,visibles sur le vivant et colorables à l'hématoxyline.

Le quatrième type *d* renfermait les globules et granulations fuschinophiles se colorant aussi, comme la chromatine du noyau avec l'hématoxyline et le picro-carmin.

Nous n'avons pas à nous occuper du premier type en fine poussière de granulations provenant d'un précipité sous l'action des réactifs ; mais il est naturel de se demander à quoi correspondent avec nos idées actuelles sur l'existence d'un vacuome constitué par des chromidies, le type *b* et le type *d* de granulations décrites en 1899.

Aucun doute n'est possible en ce qui concerne les grains de chromatine du type *d* ou grains fuschinophiles : ce sont les chromidies du *vacuome*, tel qu'on le connaît maintenant ; on peut y réunir aussi les granulations du type *b* lesquelles n'étaient sans doute que des chromidies distinguées sur le vivant.

En ce qui concerne le type *c*, le troisième, formé par de véritables globules « atteignant la grosseur des grains d'amidon », on peut se demander s'il ne s'agissait pas de quelques vacuoles ordinaires qui remplacent parfois les chromidies.

Quoi qu'il en soit, on peut constater par ce rappel d'une description ancienne, à quel point la notion du vacuome constitue un progrès important dans l'interprétation de la structure chez les organismes inférieurs.

Nous ne répéterons pas ici les détails que nous avons donnés autrefois sur la reproduction asexuelle au moyen de sporanges à deux ou quatre zoospores : nous constaterons seulement l'existence de chromidies soit dans la cellule-mère, soit

dans les zoospores qui en proviennent (fig. 17-19, pl. XX).

La sporulation peut se faire dans des cellules qui, au préalable, s'entourent d'une couche plus ou moins épaisse de mucus : comme il n'est pas rare de rencontrer de telles cellules qui effectuent un mouvement de rotation, à l'intérieur de ces enveloppes, il faut se garder de confusions possibles sur l'orientation réelle de la première bipartition : celle-ci se produit toujours perpendiculairement à l'axe même de la cellule : comme préparation à cette première division, on constate que le chromatophore s'est déplacé de 90° de telle sorte que l'avant de la cellule incolore se trouve dans le plan équatorial (fig. 17, pl. XX); comme conclusion, la division n'est transversale qu'en apparence : la bipartition ne sépare pas la moitié supérieure du corps de sa partie postérieure : la division est réellement longitudinale isolant deux moitiés symétriques de la cellule-mère et la chose est ainsi parfaitement naturelle.

Nous avons pu observer les phénomènes de sexualité dans cette espèce : les gamétanges fournissent chacun 4, 8 ou 16 gamètes (fig. 24-26, pl. XX) : ces gamètes qui possèdent la structure des zoospores avec des dimensions plus petites, s'unissent par l'avant et la fusion s'opère assez rapidement : ces gamètes sont en général de taille différente : il y a hétérogamie (fig. 27, 28, 31, pl. XX) ; mais parfois, aucune différence de taille n'existe entre les gamètes qui copulent de telle sorte que, dans cette espèce, il y a passage insensible de l'hétérogamie à l'isogamie (fig. 29, 30, pl. XX).

Ces gamètes sont dépourvus de toute enveloppe : de l'état représenté fig. 28 et 31, on passe en *quelques secondes* à la formation d'une masse arrondie munie de 4 flagellums qui reprend son activité locomotrice en roulant sur elle-même jusqu'au moment où, après quelques arrêts, elle s'arrête définitivement (fig. 32, 33, pl. XX). On reconnaît ces œufs en formation à la présence d'une ligne incolore qui marque encore provisoirement une limite entre les deux gamètes : leur

distinction d'avec les cellules à l'état de repos d'une culture, se fait plus facilement en considérant simplement que ces sphères sont munies de deux points oculiformes distincts. Ces œufs s'entourent d'une membrane épaisse ; les deux chromatophores avec leurs grains d'amidon occupent la périphérie délimitant une chambre centrale qui renferme dans le cytoplasme les deux noyaux destinés à se fusionner et les chromidies apportées par chacun des gamètes (fig. 34-35, pl. XX).

On peut donc affirmer que, chez ces algues, où le comportement des plastes dans l'œuf était connu depuis longtemps, la transmission du vacuome d'une génération à l'autre par l'intermédiaire des gamètes, est maintenant devenue à son tour pour la première fois un fait nettement établi.

La chose mérite qu'on y prête attention puisque la sexualité des Chlamydomonadinées se trouve à la base de toute théorie générale relative à la reproduction sexuelle des animaux et des végétaux.

Dans la reproduction sexuelle d'un *Chlamydomonas*, l'œuf provient non seulement de la fusion des protoplasmes et des deux noyaux, mais il contient encore d'une façon certaine les deux formations principales contenues dans les gamètes de l'un et d'autre sexe, *plastidome* et *vacuome* ; il ne reste d'incertitude que pour le *cytome* ou *chondriome* dont la présence chez ces algues fnférieures reste encore problématique.

N'est-il pas curieux de rappeler que l'un des premiers exemples de fusion nucléaire chez les Thallophytes a été signalé en 1888 (1) chez le *Chlamydomonas Reinhardi* et qu'il a fallu attendre jusqu'à ce moment pour connaître l'existence du vacuome dans ce genre et son comportement dans l'œuf ?

1. P.-A. Dangeard, La sexualité chez quelques algues inférieures (*Journal de Botanique*, 1888).

2° LE CHLAMYDOMONAS PASCHERI sp. nov.

Nous avons récolté cette espèce le 21 janvier 1916 dans un bassin du Jardin des Plantes, au Muséum de Paris : sa description date de cette époque et si elle n'a pas été publiée plus tôt, cela tient à l'incertitude où nous étions sur sa détermination.

En consultant la flore des eaux douces de Pascher, si précieuse pour les algologues, il nous a paru que cette espèce devait être placée au voisinage des *Chlamydomonas mirabilis*, *C. reticulata*, *C. Serbinowi* et *C. Korschikoffi* et aussi du *C. variabilis*, tel qu'il vient d'être étudié longuement : mais nous sommes arrivé à la conviction qu'elle ne peut être réunie à l'une quelconque de ces espèces ; c'est sans doute du *C. Serbinowi* qu'elle se rapproche le plus par le mode de fragmentation du chloroplaste : cette division m'a paru complète en certains cas : le nombre des fragments reste peu élevé et ne dépasse jamais guère la demi-douzaine : ce nombre réduit des chloroplastes secondaires me paraît constituer un bon caractère de l'espèce. Il en est un autre également qui n'est pas sans valeur.

Quand nous avons récolté cette algue, elle se trouvait à l'état d'aplanospores exactement sphériques, lesquelles étaient suspendues dans l'eau en quantité considérable (fig. 1-3, pl. XXIII) : aussi était-il difficile, sinon impossible, de lui donner sous cet état une désignation générique : parmi ces aplanospores, quelques-unes avaient déjà leur contenu divisé en quatre : beaucoup de ces aplanospores étaient gorgées d'amidon : dans celles-ci, l'emploi du rouge neutre et du bleu de crésyl qui coloraient les chromidies en rose ou en rouge violacé, était utile pour voir nettement la fragmentation du chloroplaste : ces chromidies, en effet, se trouvaient non seulement autour du noyau, mais aussi dans les rayons de sépa-

ration, donnant ainsi l'apparence d'une étoile à quatre ou cinq branches (fig. 1-3, pl. XXIII) : l'impression après cette coloration vitale était particulièrement accentuée dans certaines aplanospores à peu près dépourvues d'amidon (fig. 2, pl. XXIII).

Ces aplanospores ont donné de nombreuses zoospores dès le lendemain ; la forme générale reste à peu près sphérique, le corps s'atténuant légèrement en pointe à l'avant qui porte les deux flagellums : la longueur de ceux-ci dépasse un peu celle de la cellule (fig. 5-6, pl. XXIII) : ces zoospores épaississent plus tard leur membrane, ce qui donne lieu à une sorte d'échancrure à bords relevés, au niveau de l'insertion des flagellums (fig. 7-8, pl. XXIII).

Le rouge neutre colore très bien les chromidies dans toutes ces zoospores (fig. 5-8, pl. XXIII) : elles sont plus ou moins nombreuses et de grosseur moyenne ; les chloroplastes secondaires apparaissent parfois très distincts : le noyau qui est d'ordinaire central, se trouve exceptionnellement situé chez certains individus, un peu sur le côté (fig. 5).

Nous avons à faire pour cette espèce une constatation qui n'est pas sans intérêt : alors que très fréquemment, les vacuoles contractiles des organismes inférieurs ne se colorent pas avec les colorants vitaux, *ici la vacuole contractile prend au contraire très bien le colorant.*

En consultant nos notes, nous voyons que cette même propriété existe aussi pour le *Polytoma uvella* où les *deux vacuoles contractiles se colorent en rose par le rouge neutre* : elles peuvent se contracter et se vider de leur contenu coloré en toutes petites vacuoles.

Remarquons en passant que les chromidies du *Polytoma uvella* sont semblables à celles des *Chlamydomonas* : elles offrent même ce caractère important d'être situées en dehors de la zone amylifère, de telle sorte qu'on est tenté d'assimiler celle-ci à un véritable plaste.

Les zoospores du *Chlamydomonas Pascheri*, ne tardent

pas à revenir à l'état d'aplanospores, en perdant leurs flagellums et en devenant complètement sphériques : leur membrane dans sa partie superficielle se colore assez fréquemment par le colorant vital, bleu de crésyl ou rouge neutre.

La conjugaison des gamètes n'a pu être suivie en détail ; ces gamètes ont une forme ovale, le chloroplaste ne présentait aucune apparence de fragmentation ; il renfermait de gros grains d'amidon ; la formation de l'œuf paraît se faire comme dans le *Chlamydomonas variabilis* avec hétérogamie peu prononcée : le point oculiforme que nous n'avons pas remarqué dans les zoopores ordinaires, occupe la partie postérieure chez les gamètes (fig. 10-12, pl. XXIII).

Cette espèce dont les dimensions sont de 20 à 25 μ, comme celles du *Chl. mirabilis*, me paraît surtout caractérisée par le petit nombre des plastes secondaires, par leur habituelle indépendance, par la structure étoilée due aux rayons de cytoplasme et aussi par la facilité avec laquelle elle passe à l'état d'aplanospores.

Cette espèce est l'une des plus jolies dans le groupe des *Chlamydomonas* dépourvus de pyrénoïdes ; en la dédiant au savant professeur de Prague, nous souhaitons ne pas nous être trompé sur sa valeur spécifique ; la forme la plus voisine actuellement connue est sans doute le *Chlamydomonas platyrhyncha*.

3° LE CHLAMYDOMONAS BICONICA Pascher

Nous faisons rentrer dans cette espèce une forme rencontrée à la même époque que la précédente et dans le même habitat : elle n'est figurée ici que pour indiquer la présence de nombreuses chromidies situées à l'avant du corps (fig. 13-16, pl. XXIII) : tous les principaux caractères ; nature du chloroplaste, position du stigma, dimensions du corps en longueur et largeur se montraient conformes au type : tout au plus,

pourrait-on dire que le noyau au lieu d'être médian, avait une tendance à se placer un peu au-dessous du centre.

Il y avait intérêt à signaler l'habitat en France de cette belle espèce qui mérite d'être suivie dans son développement.

Les quelques observations que nous venons de faire au sujet des *Clamydomonas* ont eu principalement pour objet d'y faire connaître l'état du vacuome à tous les stades du développement : le fait que chez certaines espèces, les vacuoles contractiles sont capables de se colorer vitalement comme les vacuoles ordinaires soulève à lui seul plusieurs problèmes de solution difficile. Nous préférons attendre avant de les aborder. De même la découverte de véritables vacuoles dans l'intervalle qui, chez les aplanospores du *Chl, variabilis*, sépare la membrane du protoplasma, paraît assez extraordinaire et laisse entrevoir un rôle important du vacuome dans la sécrétion du mucus : mais de ce côté encore, le terrain n'est pas très solide et appelle de nouvelles recherches : celles-ci devront avoir un but précis et nettement déterminé pour être fructueuses.

Notre attention principale dans ce travail se portait ailleurs : elle était à chaque instant sollicitée par les attaques brusquées de nombreux ennemis et parasites des *Chlamydomonas* : ce sont ces ennemis et ces parasites que nous allons maintenant faire connaître.

CHAPITRE II

En 1899, nous écrivions à propos de ce *Chlamydomonas variabilis* « qu'il se cultive mal et que le dépôt vert formé par tous les sporanges en division est envahi rapidement par une foule d'infusoires ou d'amibes qui le détruisent » (*loc. cit.*, p. 138) : ce sont ces ennemis et ces parasites, pris parmi les plus intéressants, que nous allons maintenant étudier en commençant par ceux qui rentrent dans le groupe des Flagellés.

Le premier possède un mode de nutrition très particulier : l'aliment, avant de pénétrer à l'intérieur du corps où il sera digéré, subit un mouvement giratoire à la façon d'une toupie; c'est pour rappeler cette action du flagellé sur sa proie que nous le désignons sous le nom de *Gyrophagus* ; comme ce *Gyrophagus* cause dans les cultures de grands ravages, l'expression de *G. vorax* semble lui convenir parfaitement.

1° LE GYROPHAGUS VORAX nov. gen., nov. sp.

Nous avons éprouvé un grand embarras quand il s'est agi de déterminer cette espèce : notre seule ressource était de lui chercher une place parmi les Flagellés classés par Lemmermann soit dans les *Pantostomatinae*, soit dans les *Protomastiginae* (1) : bien que le corps puisse dans certains cas émettre des pseudopodes, il nous a fallu bientôt reconnaître qu'il ne pouvait être question que d'une *Protomastiginae*.

1. Lemmermann, *Die Susswasser-Flora Deutschl...*, Heft I, 1914.

Certains caractères rapprochent cette espèce des *Oicomonas* dont une forme *O. ocellata*, montre comme la nôtre un stigma : cette dernière possède même contrairement aux autres espèces du genre, un second flagellum.

Mais la ressemblance est encore plus grande avec les nombreuses formes du genre *Monas* où la présence de deux flagellums antérieurs, l'un plus grand, l'autre plus petit, est considérée comme normale : là également, nous rencontrons une espèce avec point oculiforme *M. vulgaris* : on y trouve même une forme désignée par Lemmermann sous le nom de *M. Dangeardii* dont un flagellum se rapproche un peu par sa longueur de celui de notre *Gyrophagus vorax* : à noter cependant l'absence de stigma.

Le *Gyrophagus vorax*, tout en étant voisin des *Monas*, s'en distingue par les déformations nombreuses que subit le corps, par la production de pseudopodes fins à l'avant et surtout par son mode de nutrition qui est vraiment très remarquable et suffirait à le caractériser.

Lorsqu'on aura lu description malheureusement encore incomplète de ce mode de nutrition, on sera sans doute d'avis avec nous que ces flagellés d'organisation si primitive en apparence, ont une sorte d'instinct qui leur fait exécuter des mouvements compliqués, en relation avec un but à atteindre, actes et mouvements dont le déterminisme exact paraît pour l'instant impossible à comprendre : pour tout dire, ce sont des organismes merveilleux, bien autrement organisés que la plupart de ceux qui occupent un rang plus élevé dans la classification, du côté de la Série végétale.

Nous nous rappelons avoir décrit autrefois un genre nouveau de Flagellé, l'*Antlea Closterii*, très remarquable également par son mode de nutrition et à propos duquel nous émettions des considérations semblables (1) : on néglige trop, semble-t-il, la biologie de ces organismes inférieurs qui est

1. P.-A. Dangeard, Mémoire sur quelques maladies des plantes et des animaux (*Le Botaniste*, Série II, 1890-1891, p. 256).

pourtant riche en renseignements de haute portée philosophique.

Le *Gyrophora vorax* se présente sous l'aspect de la fig. 1, pl. XXI avec une sorte d'échancrure buccale au fond de laquelle sont insérés deux flagellums dont l'un très long atteignant deux et même trois fois la longueur du corps ; le second est beaucoup plus court : il est plus facile à voir que le premier et il s'agite constamment de droite à gauche en une sorte de tremblottement ou mieux de battement : l'un des bords de l'échancrure buccale est relevée en une sorte de lèvre; du blépharophaste plus ou moins distinct, part une sorte de bande un peu contournée visible même sur le vivant ; elle représente sans doute le rhizoplaste : mais ce dernier ne semble pas aboutir au noyau : celui-ci est situé vers le premier tiers du corps ; sa structure n'offre rien de particulier : le nucléole est très gros et le noyau est lui-même de bonne dimension ; la vacuole contractile se trouve placée sur le côté un peu au dessus du noyau.

Le point oculiforme mérite une mention particulière puisqu'il est extrêmement rare chez les Monadinées : dans ce flagellé, sa présence est constante et on le trouve sous forme d'une petite tache rouge à la base de la protubérance qui constitue la lèvre buccale.

Le cytoplasme n'est entouré que d'une sorte de périplasme mince qui permet les nombreuses déformations que subit le corps du flagellé et aussi l'extension ou la diminution de volume qui résultent de la présence ou de l'absence de proies alimentaires.

Le cytoplasme renferme de petites sphérules extrêmement réfringentes ayant toutes à peu près la même dimension : leur nombre varie considéralement avec les individus et leur apparence est celle de simples globules oléagineux : elles possèdent cependant des propriétés un peu spéciales à l'égard du rouge neutre et même de l'hématoxyline.

Si l'on emploie avec précaution une coloration vitale au

rouge neutre, il peut arriver qu'aucune coloration de ces sphérules n'apparaisse sur le vivant : ce n'est qu'après éclatement du corps que ces éléments se colorent en rouge.

Dans d'autres cas, la coloration en rouge se produit sur des individus vivants, mais elle se fait assez lentement et progressivement si bien qu'on a l'impression qu'il existe deux sortes de globules, jusqu'au moment où ils ont tous pris la teinte rouge.

Enfin, il arrive que tous ces corpuscules se colorent rapidement et en même temps, alors que le flagellé n'a rien perdu de son activité.

Si l'on raisonnait par analogie avec ce que nous avons vu chez le *Chlamydomonas variabilis* et ce qui existe chez beaucoup d'algues inférieures, nous serions évidemment tenté d'assimiler ces sphérules à des chromidies et de voir dans leur ensemble, l'équivalent d'un vacuome : la tentation est d'autant plus forte que le rouge neutre est considéré, d'ailleurs avec raison, comme le colorant spécifique du vacuom

Nous nous refusons cependant à une assimilation de ce genre ; il ne faut pas oublier, en effet, que les Protozoaires comme celui-ci, ont une nutrition animale et qu'ils possèdent des vacuoles nourricières : le véritable vacuome, chez ces êtres, est constitué sans doute par ces vacuoles nourricières : il n'en reste pas moins qu'une étude de l'évolution du vacuome chez les Protozoaires est hautement désirable et nous avons déjà fait en ce sens quelques essais que nous avons l'intention de continuer.

Si ces vues sont exactes, cette exception constatée dans l'action du rouge neutre sur les éléments de la cellule, devra rendre très prudents les histologistes qui font des recherches sur le vacuome et sa manière d'être chez les animaux.

Comme ces mêmes globules qui prenant le rouge neutre, se colorent également par l'hématoxyline ferrique ; on pourrait se demander s'ils ne représentent point des cytosomes :

là encore, nous concluons par la négative : nous pensons que ces corpuscules chromatiques ne sont que de simples produits de sécrétion de nature oléagineuse, mais qui sous l'influence de la nutrition et en l'absence de cytome, s'imprègnent plus ou moins de substances protéiques et électives.

D'un examen approfondi fait sur de nombreux individus vivants à cytoplasme transparent, il en est résulté pour nous cette idée que la formation correspondante au cytome ou chondriome n'existe sans doute pas chez ce flagellé.

La nutrition chez le *Gyrophagus* se fait d'une façon extrêmement curieuse : dans la manière dont ce flagellé, qui occupe un des degrés les plus bas de l'échelle des êtres, ingère les aliments, il y a quelques chose de vraiment extraordinaire, même pour un naturaliste qui n'en est plus depuis longtemps à compter ses surprises et ses étonnements dans le domaine des infiniments petits.

La proie de choix pour le *Gyrophagus* est constituée par des *Chlamydomonas* dont il dévaste les cultures : son action destructrice a été surtout observée dans les récoltes de *C. variabilis* conservées quelque temps au Laboratoire ; chaque individu en renfermait souvent jusqu'à quatre ou cinq à différents stades de la digestion et malgré ces conditions qui paraissaient favorables, il ne nous est jamais arrivé d'assister à l'expulsion des résidus : celle-ci doit être extrêmement rapide.

Notre attention était surtout attirée, il faut bien le dire, par le mode de préhension et d'ingestion de ces aliments.

Nous avons vu qu'il existe à l'avant un très long flagellum et un second plus court : le rôle du premier est de déterminer l'existence d'un fort tourbillon qui amène le *Chlamydomonas*, l'extrémité en avant, dans l'échancrure : alors on voit le *Chlamydomonas* éprouver un *mouvement très vif de rotation, à la* façon *d'une toupie* et s'enfoncer un peu (fig. 10-11, pl. XXI) ; puis brusquement une couche mince de cytoplasme s'avance en une onde circulaire qui entoure complètement la proie

(fig. 12, pl. XXI); le phénomène complet d'ingestion, la série successive de ces opérations ne durent pas, en général, plus de cinq à dix secondes.

Le *Chlamydomonas* ainsi capturé se place plus ou moins obliquement par rapport à l'axe du corps qui reprend sa forme ordinaire (fig. 13, pl. XXI).

On ne peut faire que des conjectures sur le rôle exact et respectif de chacun des deux flagellums dans cette succession de phénomènes : comme l'attirance s'exerce à distance assez grande, il est certain que cette action est due au long flagellum : mais on ne saurait dire comment elle s'exerce au juste pour amener la zoospore directement à l'endroit de l'échancrure : quant au mouvement de rotation, rapide à la façon d'une toupie, il est encore plus incompréhensible. On ne peut que regretter qu'un acte en apparence si complexe, venant de la part d'un être aussi primitif, ne puisse être cinématographié facilement à cause de la transparence des flagellums.

Nous avons assisté plusieurs fois à la capture d'un autre organisme : la culture qui a donné lieu à ces observations était également attaquee par un champignon parasite, le *Polyphagus* dont il sera question plus loin : ce champignon possède des sporanges qui fournissent des zoospores d'assez grande taille, de forme ovale ou cylindrique, munies d'un long flagellum à l'avant : elles possèdent un noyau médian et un gros globule oléagineux dans la partie postérieure du corps (fig. 14, pl. XXI).

Le *Gyrophagus* qui m'a paru assez éclectique cependant dans le choix de ses aliments, est probablement mis en défaut par le mouvement de ces zoospores du champignon : toujours est-il que l'ingestion se fait exactement comme pour un *Chlamydomonas* ; la zoospore se trouve entraînée par son avant dans l'échancrure buccale qui s'élargit en coupe (fig. 15); on voit, pendant un instant, cette zoospore tourner sur elle-même rapidement comme une toupie (fig. 16) ; les bords de

la coupe d'invagination remontent de chaque côté, entourant complètement la zoospore qui se trouve bientôt ramenée dans le corps (fig. 17).

Il est bon de savoir que si le mode d'ingestion que nous venons de décrire représente le type normal, il en est un autre qui s'observe lorsque le flagellé se trouve dans une culture où la plupart des *Chlamydomonas* sont à l'état de repos.

Le *Gyrophagus* perd son contour régulier : les flagellums disparaissent ou du moins n'ont pas été vus à ce moment ; à leur place, se développent de petits prolongements hyalins qui se ramifient et changent de forme comme des pseudopodes ordinaires; ils agissent à la façon de palpes (fig. 6-7, pl. XXI) : lorsqu'ils ont touché la cellule du *Chlamydomonas* convoitée, le contact s'établit sur une large surface et la cellule se trouve englobée brusquement par une mince couche de hyaloplasme : l'opération entière a duré huit ou dix secondes au plus (fig. 6-9, pl. XXI).

Tandis que la digestion des *Chlamydomonas* a lieu à la façon ordinaire dans des vacuoles nourricières où l'on suit la dégradation progressive de l'algue dont la teinte verte devient rougeâtre, il nous est impossible de dire ce que deviennent exactement les zoospores du *Polyphagus*.

Les zoospores de ce *Polyphagus*, dans les conditions ordinaires de leur vie de parasite, s'arrêtent après un certain temps: elles s'arrondissent et on les voit qui émettent en différents points de leur surface, de fins rhizoïdes qui vont se ramifiant à la recherche de leur hôte, en la circonstance un *Chlamydomonas* (fig. 6, pl. XXII).

Or, celles qui sont ingérées par le flagellé, ne présentent aucune trace de digestion : par contre, elles sont en quelque sorte stérilisées, car jamais nous n'avons vu aucune d'elles émettre des rhizoïdes : on les retrouve un peu grossies, semble-t-il, avec un contour exactement sphérique et un très gros corpuscule oléagineux central : le cytoplasme qui entoure ce gros

globule est très dense et homogène (fig. 21, pl. XXI).

Le fait d'avoir assisté à la capture des grosses zoospores du champignon, de les avoir vues ensuite s'arrondir à l'intérieur de l'hôte, ne laissait aucun doute sur la nature de quelques-unes de ces sphères ; mais comme nous en trouvions d'autres, de même apparence, fixées à la surface du corps, il était difficile de dire si ces dernières appartenaient aussi au même *Polyphagus*.

Bien que la chose semble assez vraisemblable pour plusieurs, on ne saurait jusqu'ici rien affirmer en ce qui concerne les autres, pour cette raison que le *Gyrophagus* si vorace et si destructeur, est lui-même attaqué par diverses espèces de Chytridinées dont les petites zoospores se fixent à sa surface (fig. 26, pl. XXI) : ces zoospores grossissent : elles possèdent en se développant en sporange un gros corpuscule oléagineux qui fera plus tard place aux globules de même nature qui se répartissent dans chaque zoospore : le stade de sporulation de ces Chytridinées doit être rarement atteint ici, car nous n'avons rencontré qu'assez peu de sporanges arrivés à maturité : il est incontestable que la ressemblance du sporange en formation de ces parasites, au stade du gros globule oléagineux central, avec les sphères du *Polyphagus* rend la distinction parfois difficile, sinon impossible (fig. 20, 22, 23, 24, 25, pl. XXI).

Nous retiendrons de ces dernières observations malheureusement incomplètes que le *Gyrophagus*, s'il n'arrive pas à digérer les grosses zoospores de *Polyphagus* qu'il ingère, possède cependant un moyen de défense en empêchant le développement des fins rhizoïdes au moyen desquels ce parasite se nourrit : ce qui est assez curieux, aussi, c'est de voir que le *Chlamydomonas* et son parasite, viennent se retrouver à l'intérieur du flagellé.

Notons enfin que ce flagellé, lorsqu'il est attaqué en surface par des zoospores de Chytridinées, résiste assez longtemps, continuant de circuler et de se nourrir à la façon ordinaire.

2º LE RADIOSPORA NEGLECTA nov. gen. nov. sp.

Les cultures du *Chlamydomonas variabilis* nous ont fourni un autre organisme de nature animale bien différent du précédent et qui ne semble pas avoir été remarqué jusqu'ici; il se développe de préférence à l'intérieur des jeunes zoospores et aussi dans les cellules à l'état de repos.

Les cellules attaquées par ce parasite, du moins celles que j'ai eu l'occasion d'observer, sont sphériques : les tout premiers stades du parasite manquent ; mais il n'est pas difficile dans une certaine mesure de suppléer à cette lacune : le parasite qui s'est installé au début dans le cytoplasme de l'hôte sous forme de petite sphère grossit : on le retrouve refoulant sur le côté le chloroplaste ou les deux chloroplastes selon qu'il s'agit d'une cellule ordinaire ou d'une oospore, (fig. 17-19, pl. XXIII) ; il se nourrit par nutrition animale : c'est ainsi qu'il introduit à son intérieur le cytoplasme de l'algue et le digère à la façon d'un *Pseudospora* : seuls les chloroplastes sont épargnés : on les retrouve comprimés entre le parasite et la membrane de l'hôte : ils ont la forme d'un ou deux croissants et la couleur verte est conservée ; ces chloroplastes peuvent d'ailleurs, selon les individus, avoir disparu (fig. 20, pl. XXIII) ou se trouver à un degré d'altération variable (fig. 21-22, pl. XXIII) ; le point oculiforme du *Chlamydomonas* reste visible très longtemps.

Au moment de la sporulation, le protoplasma du parasite s'épure ; il abandonne au centre les résidus de la digestion en un globule de couleur rouge brun R : parfois il en existe deux ou trois de dimensions inégales ; c'est alors que commencent à apparaître de nombreux rayons qui vont de la périphérie au centre (fig. 19-21, pl. XXIII) : ces rayons délimitent des espaces à section d'abord triangulaire qui vont se transformer en autant de zoospores ovales arrondies : cette

transformation s'opère par apparition au centre d'une vacuole dont le diamètre s'agrandit et qui renferme les résidus de digestion ; finalement,les zoospores individualisées forment une couronne autour de cette vacuole : nous n'avons pas réussi à assister à leur sortie : celle-ci est d'ailleurs rendue assez difficile par la membrane de l oospore du *Chlamydomonas* : à ce dernier stade, on aperçoit encore parfois les traces des chloroplastes et même du point oculiforme.

Il est manifeste que ce parasite appartient au groupe des Monadinées zoosporées que nous avons eu l'occasion d'étudier à différentes reprises après Cienkowski et plusieurs autres savants : le mode de nutrition si particulier et le caractère de la sporulation ne sauraient laisser le moindre doute à cet égard (1).

La difficulté consiste à le classer, soit en essayant de lui trouver une place dans l'un des genres connus, soit en créant pour lui un genre nouveau.

Parmi les genres constituant le petit groupe des Monadinées zoosporées, il en est deux que nous avons décrits autrefois et qui se font remarquer par leurs très petites dimensions *Endomonadina* et *Minutularia* (2).

Le genre *Endomonadina* représenté par une seule espèce *E. concentrica* était ainsi caractérisé « Monadine vivant à l'intérieur des cellules : protoplasma s'incorporant le contenu de la cellule ; résidus de la digestion expulsés au dehors avant la formation du sporange. Sporange entouré de mucus à stries concentriques : il est sphérique ou elliptique ayant une taille de 3 à 4 μ et forme une dizaine de zoospores. *loc. cit.*, p. 239.

Incontestablement, le parasite du *Chlamydomonas* ne peut entrer dans ce genre où les résidus de la digestion sont expul-

1, P.-A. Dangeard, Recherches sur les organismes inférieurs (*Ann. sc. natur. Bot.*, T. IV, p. 241).
2. P.-A. Dangeabd, Mémoire sur les maladies des algues et des animaux, (*Le Botaniste*, 2e série, 1890-1891, p. 231).

sés au-dehois avant la formation du sporange : pour d'autres raisons, en particulier à cause de la petitesse des zoospores (1 μ), il ne saurait être question d'une espèce devant rentrer dans le second genre.

On serait tenté davantage de penser au genre *Pseudospora* dont une espèce, le *Pseudospora Nitellarum* a été bien étudiée dans tout son développement (1) : en regardant la chose de près, on constate cependant des différences avec l'espèce qui vit aux dépens des *Chlamydomonas* : ainsi, chez le *P. Nitellarum,* le clivage des zoospores n'a pas lieu de la même façon ; le mode d'épuration des résidus de la digestion est différent ; au moment de la sporulation, il ne se forme pas au centre du sporange une vacuole contenant les résidus de la digestion.

Ces différences paraissent assez tranchées pour justifier la création d'un genre nouveau : nous le désignerons sous le nom de *Radiospora* qui fait allusion à l'aspect si particulier du clivage des zoospores lors de leur différenciation.

Genre *Radiospora.* Germes endogènes atteignant de 20 à 25μ en diamètre, parasites des cellules ou des oospores du *Chlamydomonas variabilis* ; nutrition animale par incorporation directe du protoplasma de l'hôte, à l'exception parfois des chloroplastes : résidus de la digestion se réunissant au centre de la sphère en un globule brun rougeâtre d'apparence compact ; celui-ci est parfois fractionné en deux ou trois masses de taille inégale : sporulation débutant par des lignes radiales qui découpent des segments triangulaires : formation à ce moment d une vacuole centrale contenant les résidus de la digestion ; zoospores d'un diamètre de 2 μ 5 environ disposées en couronne autour de la vacuole. Une seule espèce connue jusqu'ici : *Radiospora neglecta* parasite des *Chlamydomonas.*

L'action destructrice de *Radiospora neglecta* sur les *Chlamydomonas* sans être négligeable, est loin d'atteindre en im-

1. P.-A. Dangeard, Le Polysporella Kutzingii *(Le Botaniste,* 3e Série, 1892, p. 209-214, pl. XIX).

portance celle qui provient du *Gyrophagus vorax* : celui-ci produit une véritable destruction des cultures et nous ne connaissons guère que le *Colpodella pugnax* qui donne lieu à de tels ravages.

Cienkowski, le créateur du genre, avait rencontré cette espèce si intéressante parasite du *Chlamydomonas pulvisculus* : mais d'autres *Chlamydomonas* sont également attaqués en particulier le *Chl. Dilli* et le *Chl. Reinhardi.*

On pourra se reporter pour l'étude du *Colpodella pugnax* au mémoire que nous avons publié, en 1900 avec le titre : « L'organisation et le développement du *Colpodella pugnax* (*Le Botaniste,* Série VII, p. 1-29, pl. I) ; les détails que nous donnions à cette époque n'ont rien perdu, il semble, de leur actualité en ce qui concerne cet intéressant organisme : celui-ci occupe dans la classificat on une position beaucoup plus élevée que celle qui lui était attribuée autrefois. On sait que Zopf rapprochait le genre *Colpodella* du genre *Pseudospora* (1) ; que Stein identifiait les Colpodelles avec le *Bodo caudatus* et que Klebs lui-même, sans aller aussi loin, était disposé à faire du *Colpodella pugnax* une espèce de ce même genre *Bodo.*

Rappelons que le *Colpoda pugnax,* ainsi que nous l'avons montré, possède la propriété de former de l'amidon, dans son protoplasme, en l'absence de chromatophore, propriété qu'il partage avec de rares flagellés incolores, comme le *Polytoma uvella* et le *Chilomonas Paramœcium.*

1. Zopf, *Untersuchungen über parasiten aus der Gruppe der Monadinen.* Halle, 1887.

CHAPITRE III

Les Chlamydomonadinées ont comme ennemis, non seulement des Protozoaires comme ceux que nous venons de décrire : de nombreux champignons inférieurs, principalement des Chytridinées s'acharnent à leur destruction.

Parmi ces espèces, il en est qui paraissent se développer indifféremment sur des espèces ou des genres différents : dans cette première catégorie, on peut ranger le *Chytridium globosum* A. Br. dont l'habitat comprend des algues diverses, des Œdogonium, des Closteries, des Diatomées et même des Anguillules : c'est une des espèces les plus répandues et elle n'épargne pas les cultures de *Chlamydomonas* (1).

Il en est une autre qui, pour n'avoir pas une dispersion aussi large, étend cependant sont action sur plusieurs espèces : c'est ainsi que nous avons eu l'occasion, en 1900, d'observer sur le *Chlamydomonas Dilli* une épidémie causée par le *Chytridium transversum* A. Braun, parasite déjà signalé sur le *Chl. pulvicuslus* et le *Gonium pectorale* : nous avons retrouvé cette même espèce sur le *Chl. variabilis* où elle était abondante ; nous ne reviendrons pas sur la description que nous avons donnée autrefois des sporanges et des kystes (2), ajoutant seulement que le *Chytridium* rencontré sur le *Gyrophagus vorax* (fig. 26-27, pl. XXI) paraît appartenir à cette même espèce.

Parmi les autres parasites des *Chlamydomonas*, nous cite-

1. P.-A. Dangeard, Mémoire sur les Chytridinées *(Le Botaniste,* Série I, 1889, p. 62).
2. P.-A. Dangeard, Le Chytridium transversum A, Br. *(Le Botaniste,* Série VII, p. 282-284).

rons encore le *Rhizidium acuforme* Zopf et le *Rhizidium vernale* Zopf tous les deux décrits par ce savant dans les Nova acta Acad. Leop. Bd. 47, 1884, p. 209 et 234.

Trois autres espèces de Chytridinées ont ravagé nos cultures de *Chlamydomonas variabilis* pendant nos vacances d'août à fin septembre à Ségrie (Sarthe).

L'une rentre dans le genre *Sphœrita* ; la seconde est un *Olpidium* ; la troisième appartient au genre *Polyphagus* : il nous a paru que les deux premières pouvaient être considérées comme des espèces nouvelles.

1° LE SPHAERITA SIMPLEX sp. nov.

On sait dans quelles conditions le genre *Sphaerita* a été créé en 1886 pour des germes endogènes que Stein avait regardés comme faisant partie de le reproduction des Flagellés chez lesquels leur existence avait été signalée : à ce moment, on pouvait croire que tous ces germes étaient susceptibles d'être réunis dans une même espèce et nous lui donnâmes le nom de *Sphaerita endogena* (1).

Mais il s'est produit depuis cette époque déjà lointaine, un fort mouvement d'ailleurs très justifié vers le morcellement des espèces ainsi qu'on peut le constater dans les ouvrages récents de Systématique tels que *Die Susswasserflora Deutschlands, Osterreichs und der Schweiz* de Pascher ou les monographies des *Scenedesmus* ou d'autres petites algues inférieures, monographies dues au professeur Chodat.

Le type du *Sphaerita endogena* devra être représenté par les germes endogènes qui parasitent l'*Euglena viridis*. Dans cet habitat même, il y aura lieu peut-être d'en distinguer de deux sortes, les uns devant être attribués au véritable

1. P.-A. Dangeard, *Recherches sur les organismes inférieurs, loc. cit.*, p. 277-284.

Sphaerita endogeno, les autres faisant partie d'un genre différent, le *Pseudosphaerita Euglenae* (1).

Ce seul fait que chez les Euglènes, la possibilité existe que les germes endogènes appartiennent à deux genres différents, rend encore plus vraisemblable l'existence d'espèces distinctes dans le genre *Sphaerita* : chaque cas particulier devra être examiné attentivement. La raison qui nous a conduit à regarder comme spécifiquement distincts les germes endogènes observés chez le *Chlamydomonas variabilis*, réside dans le fait qu'il nous a été impossible de contaminer avec ces germes les nombreux flacons où nous cultivions plusieurs espèces d'Euglènes : par ailleurs, on remarque bien une taille un peu plus petite des sporanges du *Sphaerita simplex*, mais le reste du développement concorde avec celui du *S. endogena* : le ou les parasites qui ont envahi la cellule du *Chlamydomonas* vivent dans le cytoplasme, alors que le noyau de l'hôte se voit longtemps sur le côté (fig. 10, pl. XXII) : ce sont des vésicules incolores dont les globules oléagineux augmentent en nombre de bonne heure (fig. 16, pl. XXII), alors que le noyau est encore unique : un peu plus tard, ce noyau subit des divisions répétées qui aboutissent à l'existence d'un élément nucléaire pour chaque zoospore, élément qui se trouve avec un globule oléagineux.

La sortie des zoospores est caractéristique du genre *Sphaerita* : elle a lieu non par une ouverture spéciale, comme pour les autres Chytridinées, mais par éclatement tout à la fois de la paroi de l'hôte et de l'enveloppe du sporange (fig. 8, 11, 12 pl. XXII).

Nous avons rencontré une seule fois un germe endogène dont le contenu paraissait en voie de fragmentation successive et non de division simultanée (fig. 15, pl. XXII) : ce cas est à rapprocher de ceux que nous avons figurés chez les

1. P.-A. Dangeard, Mémoire sur les parasites du noyau et du protoplasma (*Le Botaniste*, Série IV, 1895, p. 212).

Euglènes, mais il ne permet de formuler aucune conclusion pour l'instant.

Les kystes étaient assez fréquents, en forme de sphères régulières comme les sporanges, alors que ceux que nous avons décrits dans l'*Euglena sanguinea* autrefois (1) avaient un contour elliptique : ces derniers possédaient une membrane lisse ou échinulée : dans le *Chlamydomonas*, la membrane du kyste s'est montrée toujours dépourvue d'ornements (fig. 9, 10, 13, 16, pl. XXII).

2° L'OLPIDIUM MUCRONATUM sp. nov.

Les espèces d'*Olpidium* sont si nombreuses et tellement semblables entre elles qu'on a dû renoncer à les grouper autrement que par leur habitat : les unes se développent à l'intérieur des tissus de plantes phanérogames : d'autres envahissent les grains de pollen ou les spores : beaucoup attaquent des algues diverses : l'une a été décrite dans un filament de *Saprolegnia* ; une autre dans des œufs de Rotateurs, sans parler de l'*Olpidium Sphaeritae* rencontré par nous à l'intérieur des kystes du *Sphaerita endogena* (2).

Quant aux caractères utilisés pour distinguer ces espèces les unes des autres, ils sont fréquemment d'une insuffisance trop évidente.

On pourrait en dire tout autant de l'espèce que nous avons rencontrée à l'intérieur des cellules du *Chlamydomonas variabilis*, si elle ne présentait deux particularités que l'on n'est pas habitué à trouver dans les espèces du genre *Olpidium*.

Tout d'abord, lorsqu'on suit la pénétration d'une zoospore dans la cellule hospitalière, on voit que son contenu traverse la membrane du *Chlamydomonas* par un fin canal, en laissant au dehors une simple vésicule : cette vésicule au lieu de dis-

1. P.-A. Dangeard, Mémoire sur les Chytridinées (*Le Botaniste*, Série I,1889, p. 46-51).
2. P.-A. Dangeard, Mémoire sur les Chytridinées, *loc. cit.*, p. 51.

paraître *persiste pendant tout le développement du sporange* après s'être remplie de protoplasma et constitue une papille devenant conique et qui est plus ou moins proéminente (fig. 17-21, pl. XXII) : il se produit quelque chose d'analogue dans les espèces du genre *Entophlyctis* où la papille qui fournira le col de sortie des zoospores a une origine identique et provient du corps de la spore (1) : mais jusqu'ici, autant que nous sachions, on n'a pas vu une telle disposition chez les *Olpidium*.

Un caractère qui nous a frappé également est celui-ci : nous avons observé un sporange dont le col de sortie était indépendant de a papille (fig. 22, pl. XXII) : nous ignorons le degré de généralité du phénomène, ce n'est peut-être qu'une exception : mais il était nécessaire de la signaler.

On pourrait supposer que notre espèce n'est autre qu'un *Entophlyctis* dont nous n'aurions pas vu les rhizoïdes : si ceux-ci cependant avaient existé, nous les aurions certainement aperçus.

Le développement même du sporange a lieu suivant le mode ordinaire ; le nombre des globules oléagineux augmente jusqu'à la sporulation : chaque zoospore en possède un.

La présence du parasite est très bien supportée par l'algue pendant assez longtemps : les individus contaminés continuent de circuler activement, s'ils ne sont pas déjà au préalable dans le stade de repos : ce n'est guère qu'au moment de la sporulation du parasite que la cellule hospitalière est détruite (fig. 26-27, pl. XXII) : on rencontre des individus dont une moitié du corps est occupée par le parasite alors que le chloroplaste est encore vert, peu déformé : les chromidies elles-mêmes sont conservées sans grand changement et se colorent avec le rouge neutre d'une façon normale (fig. 21 pl. XXII).

1. *Kryptogamenflora der mark, Branderburg*, Bd. V, Pilze, p, 353-357.

3° LE POLYPHAGUS NOWAKOWSKII Raciborski

Cette espèce est due à Raciborski qui l'a rencontrée vivant aux dépens du *Chlamydomonas pluvialis* (1) : ce savant la considère comme très voisine du *Polyphagus Euglenae* ; il lui attribue des cellules de 9 à 16 μ en diamètre ; les sporanges qui sont arrondis, ovales ou allongés ont une largeur de 8 à 12 μ et une longueur de 12 à 22 μ ; cette espèce différerait du *P. Euglenae* par ses dimensions plus petites, par ses zoospores rondes n'ayant que 4 μ et par ses zygotes à membrane lisse.

Raciborski constate que l'*Euglena sanguinea* qui était abondante en compagnie du *Chlamydomonas pluvialis* n'était pas attaquée ; c'est également parce que nous avons essayé sans succès de contaminer plusieurs flacons de culture qui renfermaient des Euglènes, avec les zoospores du *Polyphagus* parasite au *Chlamydomonas variabilis*, que nous avons conclu à l'existence d'une espèce différente de *Polyphagus Euglenae.*

Comme il est peu probable d'autre part que les *Chlamydomonas* soient attaqués par deux espèces différentes de *Polyphagus*, nous rangeons l'espèce qui vit aux dépens du *Chl. variabilis* (fig. 1-6, pl. XXII) sous le nom de *Polyphagus Nowakowskii* R. sans nous dissimuler que la question des espèces dans ce genre exigerait autre chose que des observations fragmentaires.

Ainsi, on ne sait pas grand chose du *Polyphagus endogenus* Now, que nous avons eu la surprise de voir identifier autrefois à l'une des deux prétendues formes de notre *Rhizidium Euglenae* et devenue le *Saccomyces Dangeardii* Serbinow (2) ; quant au *Polyphagus parasiticus* Now. qui est parasite du *Conferva bombycina*, lui aussi mériterait d'être étudié à nouveau.

1. Raciborski, *Parasitische Algen und Pilze Javas*, I Theil, Batavia, 1900, p. 6-7.
2. *Kryptogamenflora, loc. cit.*, p. 370-371.

Pour une monographie de ce genre, on aura toujours la ressource de se reporter au Mémoire de Wager (1) et au nôtre (1) qui ont fait du *Polyphagus Euglenae* une des espèces les mieux connues parmi les Chytridinées (2).

1. Wager, The Life-history and Cytology of Polyphagus Euglenae *(Annals of Botany,* V, XXVII, 1913).
2. P.-A. Dangeard, Recherches sur la structure du *Polyphagus Euglenae* et sa reproduction sexuelle *(Le Botaniste,* Série VII, 1900, p. 213-257, pl. VI-VII).

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE IV

Association curieuse d'une Euglène et d'une Cyanophycée.

Nous avons eu l'occasion d'observer dans un flacon où une culture d'Euglènes avait été abandonnée depuis longtemps, un phénomène extrêmement curieux qui nous a fort intrigué jusqu'au moment où nous en avons trouvé l'explication.

L'Euglène qui s'était arrondie en sphère pour se diviser, était d'abord entourée d'une coque ordinaire ; autour de cette première enveloppe existait une sorte de tégument fenestré, formé par plusieurs assises concentriques, étroitement appliquées les unes sur les autres et d'aspect un peu violet (fig. 13, pl. XXIV).

Nous avons heureusement rencontré plusieurs de ces cellules dont la dernière spire du revêtement se prolongeait par un filament libre dans lequel nous avons pu reconnaître facilement une Cyanophycée ; cette Cyanophycée, nous l'avons retrouvée ensuite en filaments libres dans la culture.

Nous donnerons quelques-uns de ses caractères en vue de sa détermination : cette algue est presque incolore, de teinte faiblement violacée ; les articles qui ont un diamètre de 1 μ 5 à 2 μ, sont en général un peu plus longs que larges ; le pigment semble localisé dans un anneau pariétal et le rouge neutre fait apparaître une granulation rouge, plus rarement

deux ; il est difficile de dire si cette granulation représente une vacuole, ou une endochromidie ; les filaments sont d'ordinaire assez courts et mobiles.

Muni de ces renseignements, nous avons essayé d'identifier cette Cyanophycée à l'une des nombreuses espèces décrites ; nous n'arrivions même pas à lui trouver une place dans un genre donné quand notre attention a été attirée par la description du *Lyngbia contorta* Lemmermann, dont la distinction spécifique est précisément basée pour une large part, sur la propriété que possèdent les filaments de cette espèce de s'enrouler en spirale.

La description du *Lyngbia contorta* reproduite par G. M. Smith (1) est la suivante : Filaments free-floating, solitary ; occasionally straight, generally twisted to form regular, loose or compact spiral or helices. Sheaths firm, very thin, extending for some distance beyond the trichomes. Trichomes the same thickness throughout, not constricted at the cross walls, apical cells rounded but not capitate at the distal ends. Cell contents homogeneous, grey to pale blue-green. (Euplanktont).

Cells 1,5-2 μ broad, 3-6 μ long, Spirals 15-20 μ broad, 6-14 μ between the turns.

Cette description s'applique assez exactement à notre espèce : toutefois, on note deux différences qui peut-être ne sont pas absolument négligeables : d'une part, on n'y signale pas cette teinte violacée qui nous a frappé et d'autre part, nous n'y voyons pas indiquée la répartition du pigment dans un anneau pariétal ; ces petites différences, si elles ne sont pas dues au fait que le flacon de culture qui renfermait cette Cyanophycée se trouvait à deux mètres d'une fenêtre, justifieraient peut-être la création d'une variété *violacea*.

Nous constaterons encore que le *Lyngbia contorta* Lem-

1. Phytoplankton of the Inland lakes of Wisconsin, Part, I, p. 53.

mermann, parce que l'on en connaît jusqu'ici, n'a montré que des spires assez lâches et non appliquéesé troitement les unes sur les autres comme c'est le cas dans notre observation. Quand celle-ci a été faite, nous ne connaissions pas les propriétés du *Lyngbia cortorta*, aussi, la tentative d'explication du curieux phénomène que nous venions d observer témoignait-elle d'un certain embarras : nous la donnerons telle qu'elle cependant, sans la modifier d'autant plus que nous arrivions finalement à une conclusion exacte sur le rôle effectif de l'algue dans l'enroulement :

« On est amené à relier cet enroulement à un mouvement de rotation de l'Euglène ; ce mouvement de rotation existe bien et l'on voit fréquemment une Euglène tourner dans sa coque d'un mouvement parfois rapide ; mais celui-ci se produit alternativement dans un sens ou dans l'autre ; comme la coque reste immobile, il paraît nécessaire que l'enroulement de l'algue se produise avant la formation de cette coque souvent épaisse ; d'un autre côté, il faut après la fixation de l'algue sur l'Euglène par l'une des ses extrémités que la rotation de l'Euglène ait lieu dans le même sens et non plus comme tout à l'heure dans des sens différents, ce qui est assez difficile à expliquer.

Aussi, sans vouloir nier le rôle de la rotation de l'Euglène elle-même, nous serions assez disposé à faire intervenir directement la Cyanophycée ; celle-ci, on l'a vu, est mobile et il me paraît assez plausible d'admettre qu'elle s'enroule d'elle-même : ce qui me semble venir à l'appui de cette idée, c'est que nous avons vu, avec au centre du peloton une Euglène immobile et sans coque, ce peloton formé de cinq ou six assises, tourner sur lui-même.

Il eût été intéressant de rencontrer de tels pelotons autour d'objets quelconques immobiles par leur nature, ce qui eût résolu la question ; notre impression est cependant qu'il y a là une sorte d'association, une symbiose d'une nature particulière entre l'Euglène et la Cyanophycée ; mais il serait

prématuré de vouloir énumérer les avantages ou les inconvénients d'une telle association ».

A cette première impression qui renfermait une part d'hypothèse, nous ajouterons quelques précisions.

Le peloton comprend parfois deux individus en son centre ; une seule fois, nous en avons rencontré un dont l'intérieur était vide ; il ne restait aucune trace de coque ou de membrane (fig. 14, pl. XXIV) ; ceci est une indication que l'Euglène, lorsqu'elle est incomplètement entourée peut encore s'évader facilement de sa prison. En est-il de même dans tous les cas et surtout lorsque le revêtement formé par la Cyanophycée est aussi épais et aussi dense que dans la fig. 13, pl. XXIV ? Il est permis d'en douter ; en tout cas, la chose ne serait possible que si le *Lyngbia* desserrait lui-même son étreinte, ce qui suppose que les spires ne sont pas en quelque sorte cimentées par le mucus que produit l'Euglène d'une façon normale.

Cette Euglène ne paraît d'ailleurs nullement gênée dans sa prison ; elle conserve sa structure sans aucune altération visible et aussi sa belle couleur verte ; tantôt son cytoplasme n'est recouvert que d'une enveloppe mince, tantôt il est entouré d'une coque plus ou moins épaisse comme à l'état de liberté (fig. 13, 15, 17, pl. XXIV) ; on trouve même des exemples dans lesquels l'enroulement s'étend à deux individus au contact qui proviennent sans doute d'une bipartition au stade du repos, comme dans le développement normal (fig. 16, 18, pl. XXIV).

Tant que l'on n'aura pas rencontré un enroulement aussi étroit, aussi particulier, aussi durable du *Lyngbia contorta* autour d'un objet inerte, on sera autorisé à croire que cette sorte d'emprisonnement de l'Euglène n'est pas sans signification biologique. Il ne semble pas que l'Euglène retire un avantage très appréciable de l'association, mais il n'en est pas de même peut-être de la Cyanophycée, laquelle étant planctonique et presque incolore, a besoin d'oxygène : or, cet

oxygène est fourni, à la lumière, par toute la surface de l'Euglène ; dans les conditions d'enroulement de la Cyanophycée, celle-ci se trouve placée de la meilleure façon pour utiliser cet oxygène.

L'Euglène ainsi capturée est une espèce dont la détermination n'a pas été sans offrir certaines difficultés et longtemps, nous avons pensé qu'il s'agissait d'une espèce nouvelle, alors que nous avions affaire à l'*Euglena polymorpha.*

Cette espèce s'était développée dans un flacon de culture abandonné depuis plusieurs mois au milieu d'autres, à une distance de 2 mètres environ d'une fenêtre dans notre petit Laboratoire de la campagne à Ségrie (Sarthe) : elle recouvrait les parois du flacon d'un enduit vert, constitué par les cellules immobiles dont beaucoup en voie de bipartition sous une épaisse enveloppe (fig. 10-12, pl. XXIV) : les individus en activité occupaient la surface ou l'intérieur du liquide.

Il faut sans doute attribuer à cet habitat un peu spécial les différences que présentait cette forme avec l'espèce type décrite en 1902 et qui venait d'être récoltée dans un bassin du Jardin botanique de Poitiers (1) ; alors que celle-ci avait une longueur de 80 à 90 μ, l'Euglène de Ségrie ne dépassait guère 70 à 80 μ et beaucoup d'individus étaient plus petits avec une longueur de 60 μ environ.

Ces différences de grosseur n'étaient pas les seules : nous les notions avec soin dans l'idée d'établir une démarcation avec l'*Euglena polymorpha* type ; ces différences méritent d'être signalées, non en vue maintenant de caractériser une espèce nouvelle, mais seulement de montrer les limites de variation d'une espèce polymorphe.

L'Euglène de Ségrie possédait un nombre de chloroplastes moindre que l'*Euglena polymorpha* type : il était d'une dizaine au maximum et beaucoup d'individus n'en possédaient

1. P.-A. Dangeard, Recherches sur les Eugléniens (*Le Botaniste*, Série VIII, 1902, p. 175).

que sept ou huit ; ce sont des disques à contour régulier qui sont situés à la périphérie du corps ; ces chloroplates ont en général un pyrénoïde recouvert de deux petites calottes minces de paramylon ; lorsque celles-ci manquent, le chloroplaste paraît dépourvu de pyrénoïde (fig. 1-9, pl. XXIV).

Nous avons longuement décrit, en 1902, les modifications que subissent les chloroplastes dans l'*Euglena polymorpha* ; celle-ci montre fréquemment sur ses pyrénoïdes de grosses calottes de paramylon qui font contraste avec celles de l'Euglène de Ségrie qui sont au contraire très minces : d'une façon générale, le paramylon se montre plus abondant dans la première de ces deux formes, alors que la seconde en est parfois presque entièrement dépourvue : ainsi on trouve des individus qui ne renferment qu'un nombre très restreint de petits bâtonnets ou de corpuscules arrondis de cette substance; d'autres individus sont, il est vrai, plus riches en paramylon.

Le métabolisme est très accentué dans cette espèce ; à côté du stade de grande activité qui se manifeste avec l'aide du flagellum et sous la forme normale de l'espèce (fig. 1, 2, pl. XXIV), il en est d'autres qui rentrent dans les phénomènes de métabolisme : beaucoup d'individus effectuent une sorte de reptation, pendant laquelle le corps se renfle, se déforme, s'allonge, s'étrangle en son milieu, se rétrécit ou s'étend irrégulièrement (fig. 9, pl. XXIV) : le protoplasma n'est recouvert à ce moment que d'une membrane mince, sans striation apparente, qui se prête à toutes ces modifications.

On observe aussi une tendance marquée de beaucoup d'individus à tourner sur eux-mêmes en s'arrondissant plus ou moins ; en même temps, ils sécrètent une enveloppe gélatineuse qui devient parfois assez épaisse et à l'intérieur de laquelle, ils continuent leur mouvement de rotation, tantôt dans un sens, tantôt dans l'autre (fig. 10, pl. XXIV).

De tous les caractères fournis par l'Euglène de Ségrie,

celui qui nous avait frappé le plus était la présence dans la très grande majorité des individus de grosses masses rougeâtres ou brun rougeâtre à contour régulier ou mamelonné; ces masses se trouvaient à l'intérieur du corps occupant des positions variables ; certains individus n'en possédaient qu'une vers le milieu du corps ; d'autres en avaient deux situées l'une au-dessus de l'autre ; enfin ces masses d'apparence résiduelle étaient parfois en nombre plus élevé, atteignant mais rarement la demi-douzaine ; ces gros amas ou ces sphères rougeâtres foncées se rencontrent également dans les cellules en bipartition (fig. 10-12 pl. XXIV).

Nous ne saurions rien dire de précis sur l'origine et le rôle de ces formations qui sont constituées d'une substance dense et sensiblement homogène : une seule ligne leur est consacrée dans la description que nous avons faite en 1902 de l'*Euglena polymorpha*, mais le passage vaut cependant d'être cité.

« Dans cette espèce,disions-nous, on observe facilement sur les exemplaires maintenus quelque temps à l'obscurité la réduction graduelle des chloroleucites ; c'est la substance même des pyrénoïdes qui persiste le plus longtemps avec une teinte jaune clair T fig. 12, F ; *des masses rougeâtres apparaissent dans le cytoplasme* » *loc. cit.*, p. 178.

C'est en relisant par hasard cette simple ligne que nous avons abandonné l'idée de faire de notre Euglène de Ségrie une espèce nouvelle sous le nom d'*Euglena paradoxa*.

On peut évidemment se demander comment il se fait qu'une espèce comme l'*Euglena polymorpha* qui n'avait montré ces masses rougeâtres que tout à fait exceptionnellement dans les cultures de Poitiers, si bien que nous n'avions accordé aucune importance à leur apparition, soit arrivée dans les cultures de Ségrie à en posséder régulièrement dans la plupart des individus : jusqu'à ce que l'explication de cette anomalie ait été fournie, il restera toujours un certain doute sur l'assimilation des deux formes.

Quoiqu'il en soit, nous savons déjà qu'il ne saurait être

question d'un phénomène de dégénérescence, car les individus qui renferment ces masses rougeâtres, qu'ils soient libres ou en bipartition, possèdent par ailleurs une structure tout à fait normale ; les chloroplatses sont intacts et d'une belle couleur verte : la vacuole contractile fonctionne normalement et le point oculiforme conserve son aspect ordinaire.

On pourrait penser à un dépôt d'hématochrome : cette supposition n'est étayée jusqu'ici sur aucun fait probant : il est vrai que dans une espèce, l'*Euglena flava*, quelques individus montrent parfois au centre de la cellule un amas de granulations rouges d'hématochrome (*loc. cit.*, p. 181) : mais il n'existe rien de pareil dans l'*Euglena polymorpha*. Tout ce que nous pouvons faire pour l'instant, c'est d'attirer l'attention des chercheurs sur ces singulières formations lesquelles jusqu'ici n'ont pas d'analogues chez les autres Eugléniens et même dans les cellules végétales en général.

Il nous restait cependant une incertitude à cet égard : ces masses rougeâtres d'apparence résiduelle auraient pu à la rigueur provenir du vacuome ; il était donc utile de chercher à préciser les caractères du vacuome dans cette espèce.

L'étude du vacuome chez l'*Euglena polymorpha* montre d'une façon incontestable que les masses rougeâtres, d'apparence résiduelle, dont il a été question, n'ont aucune relation avec les vacuoles ; ou en est donc réduit jusqu'ici à une ignorance complète sur leur origine, leur rôle et leur destinée ultérieure.

Il nous restait à étudier comparativement le vacuome de cette espèce avec celui d'autres Eugléniens : nous allons voir dans le chapitre qui suit que l'on se heurte à de nombreuses difficultés d'application.

CHAPITRE V

REMARQUES SUR LE VACUOME DES EUGLÉNIENS

On sait que Klebs avait réussi, en employant le bleu de méthylène à suivre chez quelques Euglènes une émission de mucus sous forme de filaments enchevêtrés et il avait même coloré avec le vert de méthyle, chez l'*Euglena sanguinea* des corpuscules disposés dans le cytoplasme périphérique qui auraient été en relation avec cette sécrétion du mucus : cette relation a été établie par nous en 1902 après fixation et coloration à l'hématoxyline d'une façon indiscutable pour l'*Euglena velata, loc. cit.*, p. 171.

La question du système mucifère a rebondi à la suite de l'emploi des colorants vitaux dans la mise en évidence du vacuome des cellules végétales et des cellules animales.

C'est ainsi que Pierre Dangeard, dans une première note (1) signale que chez quatre espèces d'Euglènes (*E. viridis*, *E. acus* *E. deses*, *E. tripteris*), il a pu mettre en évidence au moyen des colorants vitaux de nombreuses petites vacuoles d'un type spécial, à contenu dense et dont la taille oscille entre une fraction de μ et 2 μ environ : celles d'un *Trachelomonas* et d'un *Phacus* étaient seulement au nombre d'une dizaine environ et leurs dimensions plus considérables les rapprochaient davantage du type commun aux cellules végétales.

D'un autre côté, le même auteur constatait dans une seconde note ce fait intéressant que le système mucifère

1. Pierre Dangeard, Le vacuome chez les Eugléniens (*Bull. Soc. Bot.*, 4e série, t. XXIV, 1924, p. 297).

vu par Klebs et par nous chez quelques espèces, jouissait comme les éléments du vacuome, de la propriété de se colorer vitalement par le rouge neutre ; la conclusion de cette seconde note (1) est que chez les Eugléniens, il existe deux appareils indépendants, vacuome et système mucifère, pouvant exister simultanément et se colorant tous les deux avec les colorants vitaux.

Nous avons voulu essayer d'éclaircir cette question qui soulève des problèmes du plus grand intérêt et voici résumés brièvement les principaux résultats obtenus.

Il était indiqué de s'adresser tout d'abord à l'une des espèces les plus communes, l'*Euglena viridis*, qui fournira un bon matériel d'étude à ceux qui voudront reprendre ces observations.

Dans l'*Euglena viridis*, le milieu du corps est occupé par un gros pyrénoïde duquel rayonnent des bandes vertes : on reconnaît là le chromatophore étoilé caractéristique de l'espèce.

Le rouge neutre, selon les individus, colore de petites sphérules ayant à peine 1 μ de diamètre ou des sphères plus grosses au nombre d'une vingtaine environ pouvant atteindre jusqu'à 3 μ : ces vacuoles (fig. 1-6, pl. XXV), sont situées pour la plupart au voisinage immédiat de la membrane : aucune différence ne peut être faite entre ces vacuoles d'après leur grosseur, car on passe des unes aux autres par des transitions insensibles ; les individus, qui après une bipartition, sont réunis sous une même enveloppe, montrent aussi de telles vacuoles disposées à la périphérie du cytoplasme : elles ont de 2 à 3 μ en diamètre (fig. 5, 6, pl. XXV) ; le rouge neutre ne permet pas de suivre l'émission du mucus dans cette espèce.

L'*Euglena pisciformis* donne lieu à des remarques semblables ; on arrive à colorer dans cette petite espèce un nombre

1. Pierre Dangeard, L'appareil mucifère et le vacuome chez les Euglènes (*Ann. de Protistologie*, vol. I, juillet 1928).

variable de globules de 6 à 20 en moyenne ; les plus gros ne dépassaient guère 2 µ 5 ; les deux chromatophores étant superficiels, les sphérules vacuolaires se trouvent non au contact de la membrane, mais plus intérieurement (fig. 8-10, pl. XXV) : le vacuome conserve ces caractères pendant la formation des colonies (fig. 10-11, pl. XXV).

Chez l'*Euglena oxyuris*, espèce de grande taille, le vacuome est lui-même très développé ; sous la membrane qui est striée en spirale se trouvent d'une part de nombreux chloroplastes à contour sphérique d'un diamètre de 4 à 5 µ et des vacuoles également superficielles dont la grosseur est sensiblement égale à celle des plastes : le rouge neutre ne pénètre que lentement et difficilement ; mais lorsqu'il arrive à ces vacuoles non seulement il les colore, mais fréquemment il détermine la précipitation à leur intérieur d'une endochromidie ou de plusieurs, exactement comme la chose se produit chez les végétaux ordinaires (fig. 14, pl. XXV) : quelques-unes de ces vacuoles plus petites conservent leur contenu homogène. La *formation d'endochromidies signalée pour la première fois chez les Eugléniens est importante en ce sens qu'elle met hors de doute la nature exacte du vacuome dans ce groupe.*

En ce qui concerne l'*Euglena granulata* ou du moins l'espèce que nous distinguons sous ce nom et dont un bon caractère est d'avoir fréquemment le corps terminé par une pointe incolore, le rouge neutre ne montre, comme dans les espèces précédentes, que des sphérules rouges d'une seule sorte disposées sous la membrane qui est striée en spirale ; elles ont 2µ en diamètre et représentent pour nous incontestablement le vacuome (fig. 12, pl. XXV).

On peut en dire autant des corpuscules de même taille, mais relativement moins nombreux que nous avons colorés dans l'*Euglena spirogyra* : il ne semble pas exister deux appareils différents colorables au rouge neutre (fig. 13, pl. XV).

S'il n'est guère contestable que, dans les espèces précé-

dentes, le rouge neutre ne colore en rose que des éléments appartenant au vacuome, il était indiqué d'employer le même colorant vital chez les espèces qui ont donné lieu aux observations relatives à la production du *mucus* ; l'*Euglena velata* était particulièrement intéressante à étudier de ce point de vue.

Or, voici ce que nous avons constaté à cet égard : sur certains individus en activité assez rares, nous trouvions *uniquement* des corpuscules sphériques de 2 µ à 2 µ 5 de diamètre au contact de la membrane : sur d'autres individus,beaucoup plus nombreux, nous rencontrions *exclusivement*, à la même place, sous la membrane, des éléments en bâtonnets disposés perpendiculairement à la surface (fig. 15-16, pl. XXV). Il est difficile d'échapper à cette conclusion que sphérules et bâtonnets appartiennent à la même formation ; si cette conclusion est exacte nous avons affaire au vacuome. Malheureusement, pour suivre l'émission de mucus par les vacuoles ainsi étirées en bâtonnets, le rouge neutre s'est montré sans utilité : il faudra en revenir aux autres réactifs déjà employés et peut-être à l'hématoxyline ferrique et à la fuschine acide qui ont fourni autrefois un si bon résultat.

Nous avons pu faire des constatations identiques sur des récoltes d'*Euglena sanguinea* et d'*Euglena splendens*. On obtient avec cette dernière en particulier des résultats de toute beauté : c'est ainsi qu'au moment où le corps s'arrondit en une grosse sphère, on aperçoit des centaines de petits bâtonnets rouges disposés en files spirales comme les chloroplastes eux-mêmes ; bâtonnets rouges et plastes verts se dressent plus ou moins perpendiculairement à la surface ; les files de bâtonnets et les files de plastes alternant régulièrement fig. 18, pl. XXV) : vus en surface, les bâtonnets pourraient être pris facilement pour des sphères : il n'est pas rare que ces éléments amincis en pointe aux deux bouts prennent l'apparence d'une navette.

La même disposition générale existe dans des individus

qui se sont entourés d'une très épaisse membrane gélatineuse; c'est ainsi qu'avec des sphères atteignant 40 μ, on a des membranes qui ont parfois une épaisseur de 6 à 7 μ : malgré cette épaisseur de l'enveloppe, le colorant vital arrive à pénétrer ; il met en évidence des bâtonnets rouges situés à la périphérie du cytoplasme qui ont les mêmes propriétés que les précédents ; nous en dirons autant des individus qui, étant protégés par une enveloppe semblable viennent de subir une bipartition ; leur vacuome est identiquement le même.

Nous pourrions répéter pour l'*Euglena sanguinea*, ce que nous venons de dire de l'*Euglena splendens* et de l'*Euglena velata*.

Chez les autres Eugléniens que nous avons eu l'occasion de rencontrer, en particulier dans le *Phacus pleuronectes* (fig. 19, pl. XXV) et ses variétés, dans le *Phacus clavata* (fig. 21-22, pl. XXV), dans le *Phacus pyrum* (fig. 20, pl. XXV), dans un *Crumenula* qui est sans doute le *C. Steinii*, le rouge neutre n'a jamais coloré dans nos expériences que des corpuscules du premier type à contour sphérique.

On se trouve donc, chez les Eugléniens, en présence d'éléments colorables de la même façon par le rouge neutre mais différents d'aspects ; les uns appartenant au premier type, appartiennent incontestablement au vacuome ; pour les autres qui affectent communément la forme en bâtonnet ou en navette, il peut subsister un certain doute sur leur parenté avec les premiers.

S'il était possible de les observer simultanément dans un même individu en les séparant nettement, il faudrait admettre l'existence chez les Eugléniens d'un système mucifère indépendant du vacuome.

Nos observations ne permettent pas de considérer cette existence comme définitivement établie, car nous n'avons jamais vu les deux types coexister dans un même individu : aussi sommes-nous disposé jusqu'à nouvel ordre à considérer

ce qu'on appelle système mucifère, comme une simple modification du vacuome ordinaire : nous admettons très bien d'ailleurs que la question, pour être résolue définitivement, exige encore de nouvelles recherches.

EXPLICATION DES PLANCHES

Nota. — Les figures ont été dessinées en général à un grossissement de 1000

PLANCHE XX

Le *Chlamydomonas variabilis* (fig. 1-36).

Fig. 1, 2, 3, 5. — Individus à l'état d'activité avec leur chloroplaste P plus ou moins découpé et renfermant uns quantité d'amidon variable ; dans la chambre cytoplasmique, nombreuses chromidies C colorables au rouge neutre et teintées en noir sur le dessin : elles sont accompagnées de rares globules oléagineux, O ; V' vacuole contractile ; S stigma.

Fig. 4. — Le vacuome dans cet individu est représenté par quelques vacuoles ordinaires.

Fig. 6. — Cellule passée à l'état de repos et devenue sphérique.

Fig. 7. — Deux aspects différents du chloroplaste.

Fig. 9-12. — Cellules vues après fixation et coloration à l'hématoxyline : les sphérules noires contenues dans le cytoplasme semblent correspondre aux chromidies.

Fig. 13-14. — Vacuoles renfermant chacune une endochromidie.

Fig. 16. — Un stade de la dégénérescence graisseuse.

Fig. 17-19. — La formation des zoospores dans les sporanges : nombreuses chromidies.

Fig. 15. — Une zoospore avec quelques vacuoles et plusieurs globules oléagineux.

Fig. 20-22. — Aplanospores ; dans deux d'entre elles, on observe entre la membrane et le protoplasma des sphères colorables au rouge neutre, tout à fait semblables aux vacuoles ordinaires.

Fig. 23. — Cellule dont la bipartition est achevée et qui est entourée d'une couche épaisse de mucilage.

Fig. 24-26. — Formation des gamètes.

Fig. 27-31. — Copulation des gamètes.

Fig. 32-33. — Sphères mobiles, résultat de l'union des gamètes.

Fig. 34-35. — L'œuf avec ses chromidies.

Fig. 36. — Une zoospore ordinaire fixée et colorée montrant une réduction très grande de la quantité de son cytoplasme.

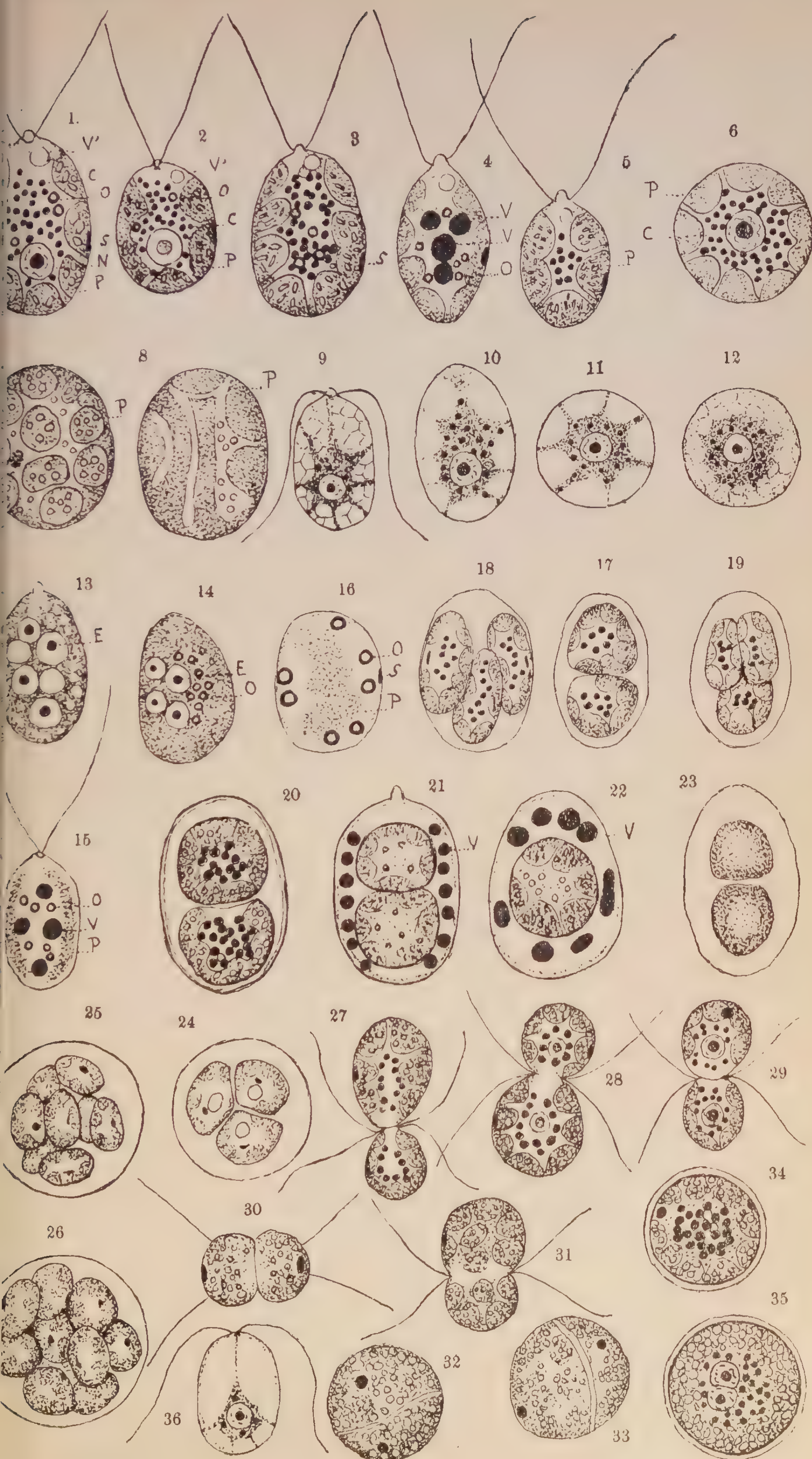

1.
V'
C
O
S
N
P
2
V'
O
C
P
3
S
4
V
V
O
5
P
6
P
C
8
P
9
10
11
12
13
E
14
E
O
16
O
S
P
18
17
19
15
O
V
P
20
21
V
22
V
23
25
24
27
28
29
30
26
31
34
35
32
36
33

PLANCHE XXI

Le *Gyrophagus vorax* (fig. 1-27).

Fig. 1-4. — Les différents aspects du flagellé avec ses vacuoles nourricières et ses globules réfringents.

Fig. 5-6. — Deux individus dépourvus de vacuoles nourricières.

Fig. 7-9. — Le *Gyrophagus* avance ses pseudopodes du côté de la proie C qui est un *Chlamydomonas* et il l'englobe rapidement.

Fig. 10-13. — Ici, les deux flagellums interviennent : en 11, le *Chlamydomonas* subit un mouvement de rotation : il est ensuite entouré par une onde de cytoplasme incolore 12, puis finalement englobé.

Fig. 14. — Deux zoospores de *Polyphagus*.

Fig. 15-17. — Le *Gyrophagus* ingère une de ces zoospores, en lui faisant subir d'abord un mouvement de rotation.

Fig. 18-19. — Le phénomène se reproduit chez un autre individu.

Fig. 20-25. — Sphères incolores avec gros corpuscules oléagineux central, tantôt incluses dans le cytoplasme du flagellé et tantôt plus ou moins adhérentes à sa surface ; en 23, le globule central est fragmenté et la vacuole contractile du *Gyrophagus* fonctionne encore normalement.

Fig. 26-27. — Le *Gyrophagus* est attaqué par le *Chytridium transversum*.

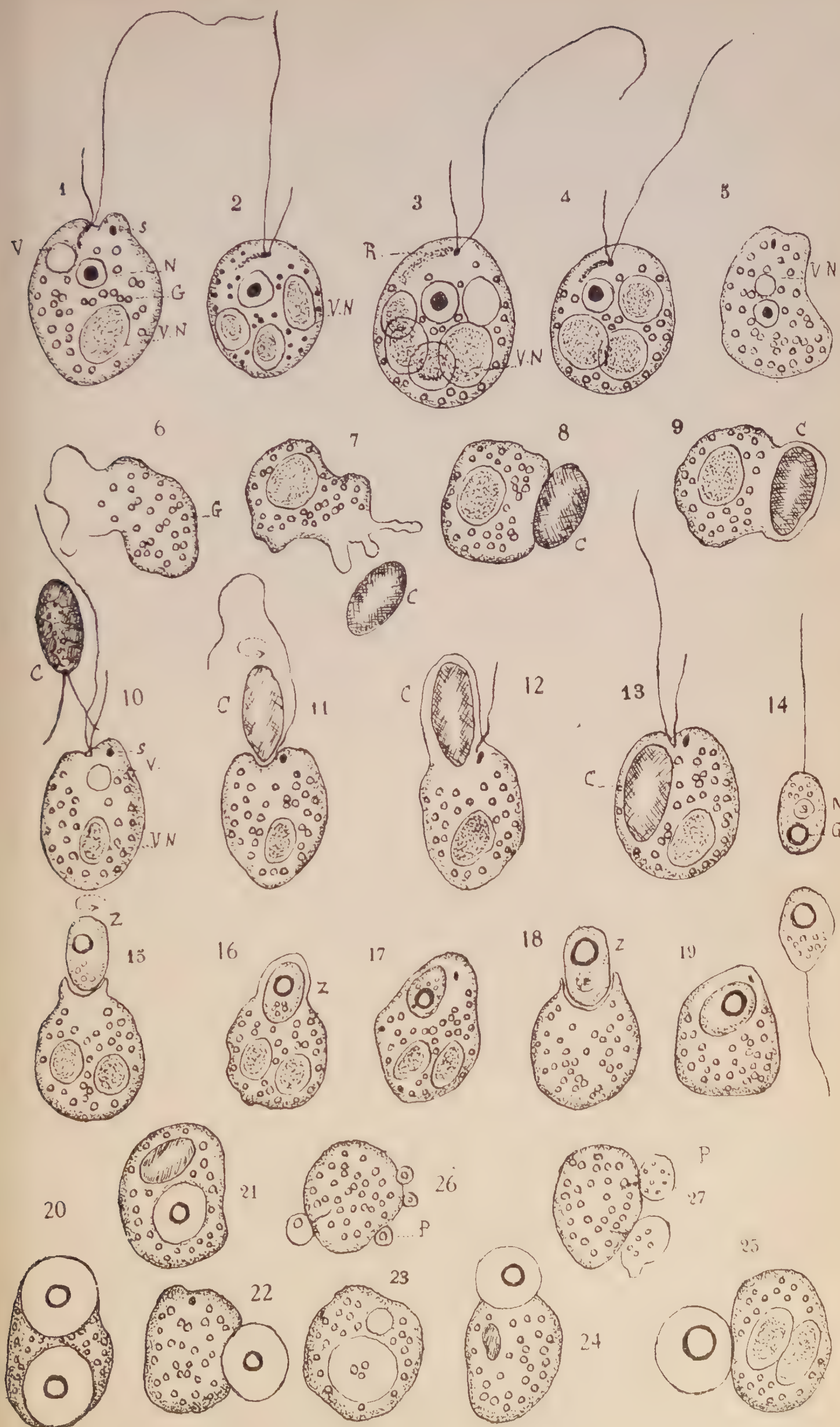

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
V
S
N
G
V.N
R
C
Z
P

PLANCHE XXII

Le *Polyphagus Nowakowskii* (fig. 1-6).

FIG. 1. — Le *Polyphagus Nowakowskii* se nourrissant des cellules du *Chlamydomonas variabilis*.
FIG. 2. — Un sporange avec ses zoospores formées.
FIG. 3. — Aspect au moment de la séparation des zoospores.
FIG. 4. — Stade plus avancé avec traits fins colorés en rouge par le colorant vital.
FIG. 5. — Une zoospore avec son noyau et son globule oléagineux.
FIG. 6. — Une zoospore en train d'émettre ses rhizoïdes.

Le *Sphaerita simplex* (fig. 7-15).

FIG. 7-8. — Deux cellules de *Chlamydomonas* renfermant plusieurs parasites à des stades différents du développement : formation des zoospores.
FIG. 9, 10, 13, 14, 16. — Les kystes du parasite.
FIG. 11-12. — La sortie des zoospores.
FIG. 15. — Aspect aberrant d'un sporange.

L'*Olpidium mucronatum* (fig. 17-27).

FIG. 17-19. — Les premiers états du parasite : pénétration des zoospores dans la cellule de *Chlamydomonas*.
FIG. 20-21. — Stades plus avancés, avec globules oléagineux.
FIG. 22. — La sortie des zoospores par un col situé à côté du mucron.
FIG. 23. — Aspect aberrant et d'attribution douteuse après fixation et coloration.
FIG. 24-25. — Germes parasites appartenant peut-être à l'*Olpidium*.
FIG. 26. — Sporange d'*Olpidium* avec ses zoospores.
FIG. 27. — Un sporange vide et un germe d'attribution douteuse.

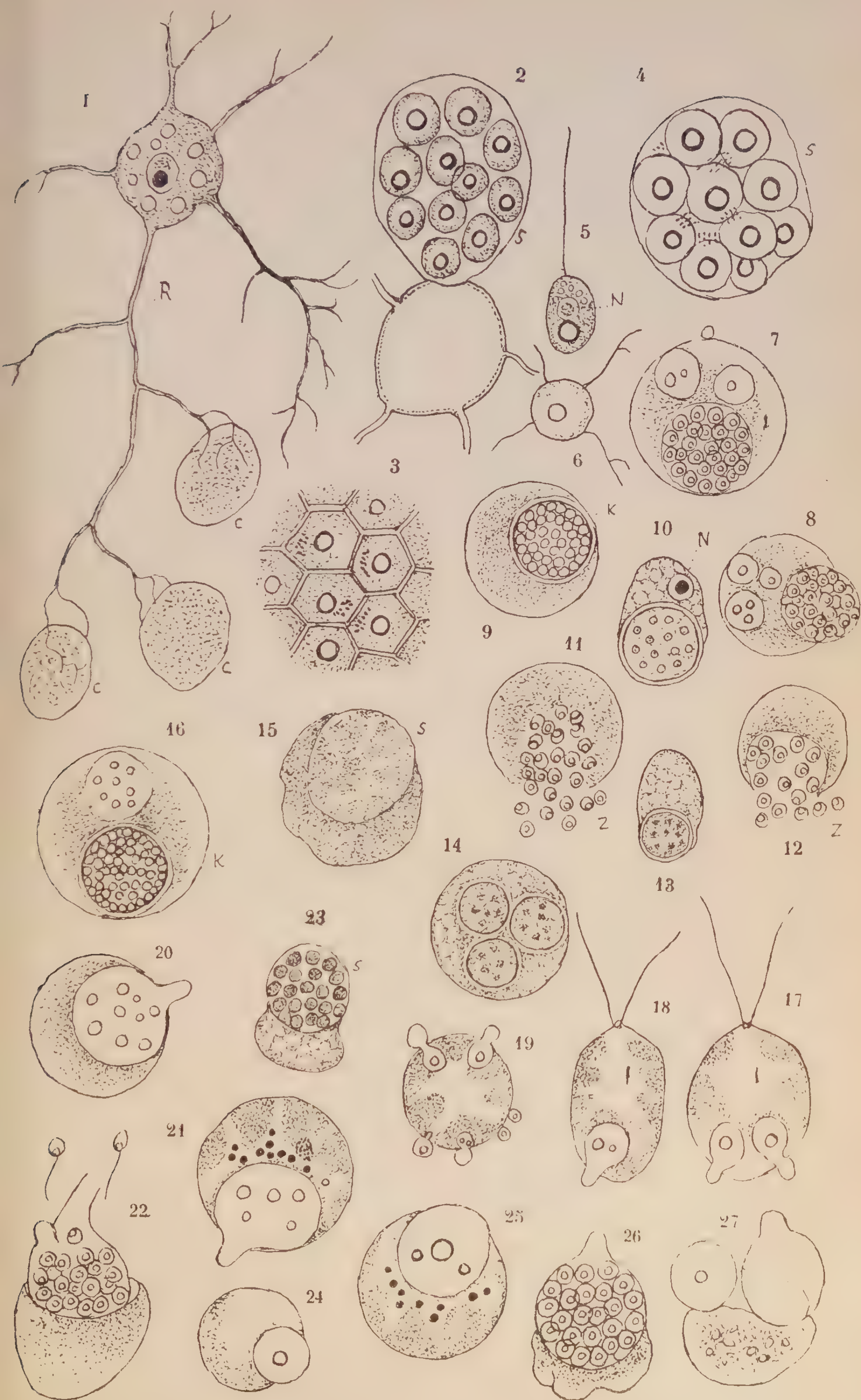

1
R
c
c
c
2
s
3
4
s
5
N
6
7
8
9
K
10
N
11
Z
12
Z
13
14
15
s
16
K
17
18
19
20
21
22
23
s
24
25
26
27

PLANCHE XXIII

Le *Chlamydomonas Pascheri* (fig. 1-12).

Fig. 1-3. — Aplanospores avec leurs chloroplastes P et leurs chromidies C.
Fig. 4. — Sporulation dans une aplanospore.
Fig. 5-6. — Zoospores à membrane mince avec leur noyau N, leurs chloroplastes P, leurs chromidies C ; la vacuole contractile V se colore par le rouge neutre.
Fig. 7-8. — Deux zoospores à membrane épaisse.
Fig. 9. — Aplanospore de nouvelle formation.
Fig. 10-12. — La conjugaison des gamètes.

Le *Chlamydomonas biconica* (fig. 13-16).

Fig. 13-15. — Trois zoospores avec leurs chromidies C.
Fig. 15. — Séparation du chloroplaste par une ligne étroite.

Le *Radiospora neglecta* (fig. 17-23).

Fig. 17-18. — Le parasite à l'intérieur du *Chlamydomonas* ; au centre de la sphère, résidu de la digestion R.
Fig. 19. — Le parasite à structure radiée, ayant refoulé les deux chloroplastes P contre la membrane.
Fig. 20.— Le chloroplaste a disparu ; plusieurs résidus de digestion R au centre de la sphère.
Fig. 21. — Une vacuole s'est produite autour des résidus de digestion qui prépare la sporulation.
Fig. 22, 24. — Sporanges avec couronne de zoospores formées.
Fig. 23. — Le parasite encore jeune avec des globules réfringents.

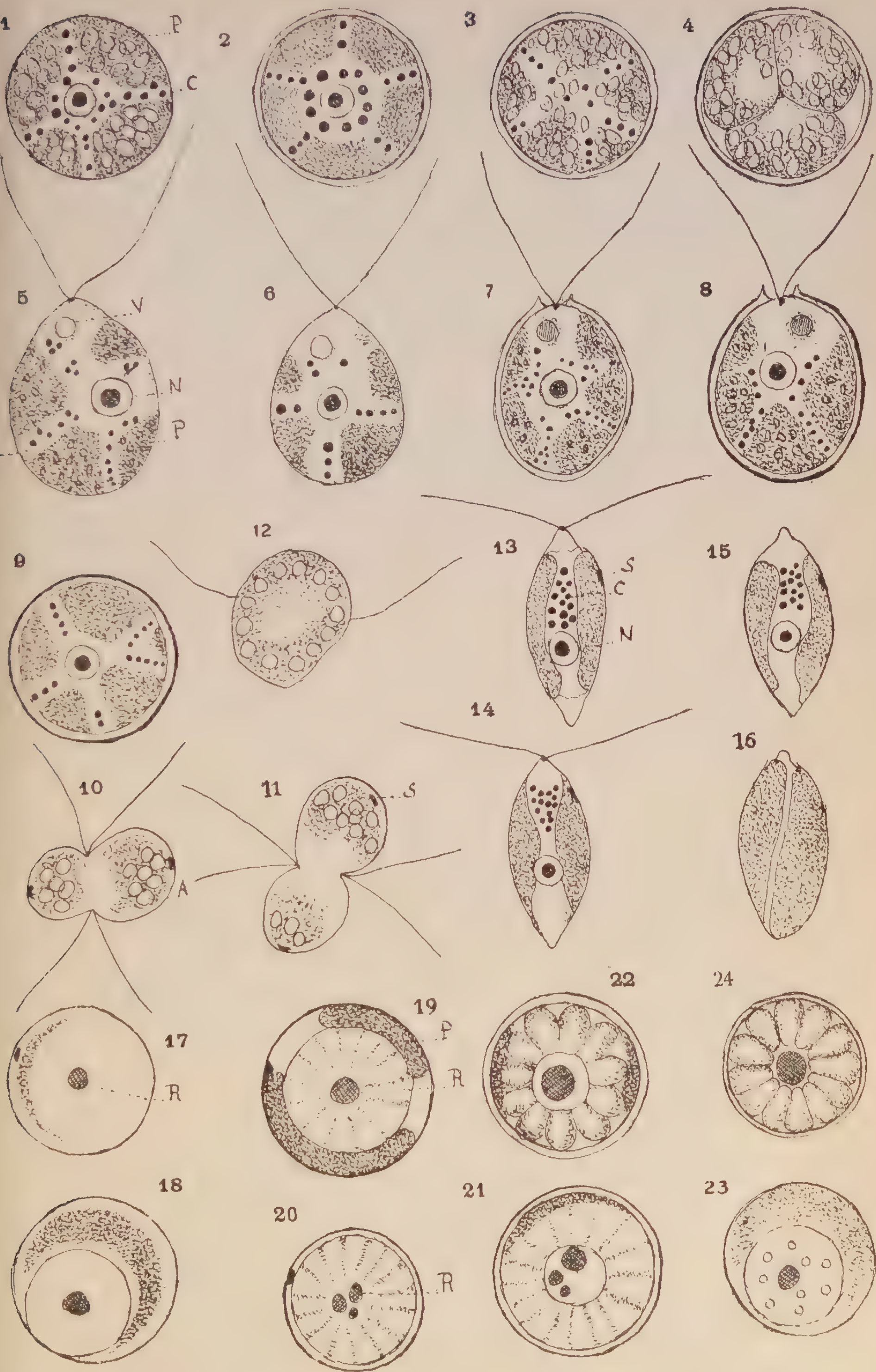

1
P
C
2
3
4
5
V
N
P
6
7
8
9
12
13
S
C
N
15
14
16
10
A
11
S
17
R
19
P
R
22
24
18
20
R
21
23

PLANCHE XXIV

L'*Euglena polymorpha* et son associé le *Lyngbia contorta* (fig. 1-19).

FIG. 1. — *Euglena polymorpha* montrant les plastes *c*, les chromides *v*, les masses rougeâtres *r*.
FIG. 2. — Cet individu ne contient qu'une seule masse rougeâtre ; il a peu de paramylon et le pyrénoïde des plastes est recouvert de deux minces calottes de paramylon.
FIG. 3. — Le vacuome comprend une douzaine de vacuoles ordinaires *v*.
FIG. 4. — Individus contenant quatre masses rougeâtres *r*.
FIG. 5-8. — Le vacuome est formé d'un nombre variable de vacuoles ordinaires
FIG. 9. — Un des aspects de la métabolie.
FIG. 10-12. — Stades de repos avec bipartition sous une couche épaisse mucilagineuse.
FIG. 13. — Une Euglène entourée étroitement par plusieurs assises du *Lyngbia contorta*.
FIG. 14. — Le *Lyngbia contorta* autour d'une enveloppe vide.
FIG. 15-18. — Les divers aspects de l'enroulement de la Cyanophycée autour de l'Euglène.
FIG. 19. — Le *Lyngbia contorta* à l'état de liberté,; en *b*, fortement grossi pour montrer l'anneau pariétal contenant le pigment : au centre de chaque cellule, une ou deux chromidies colorées par le rouge neutre.

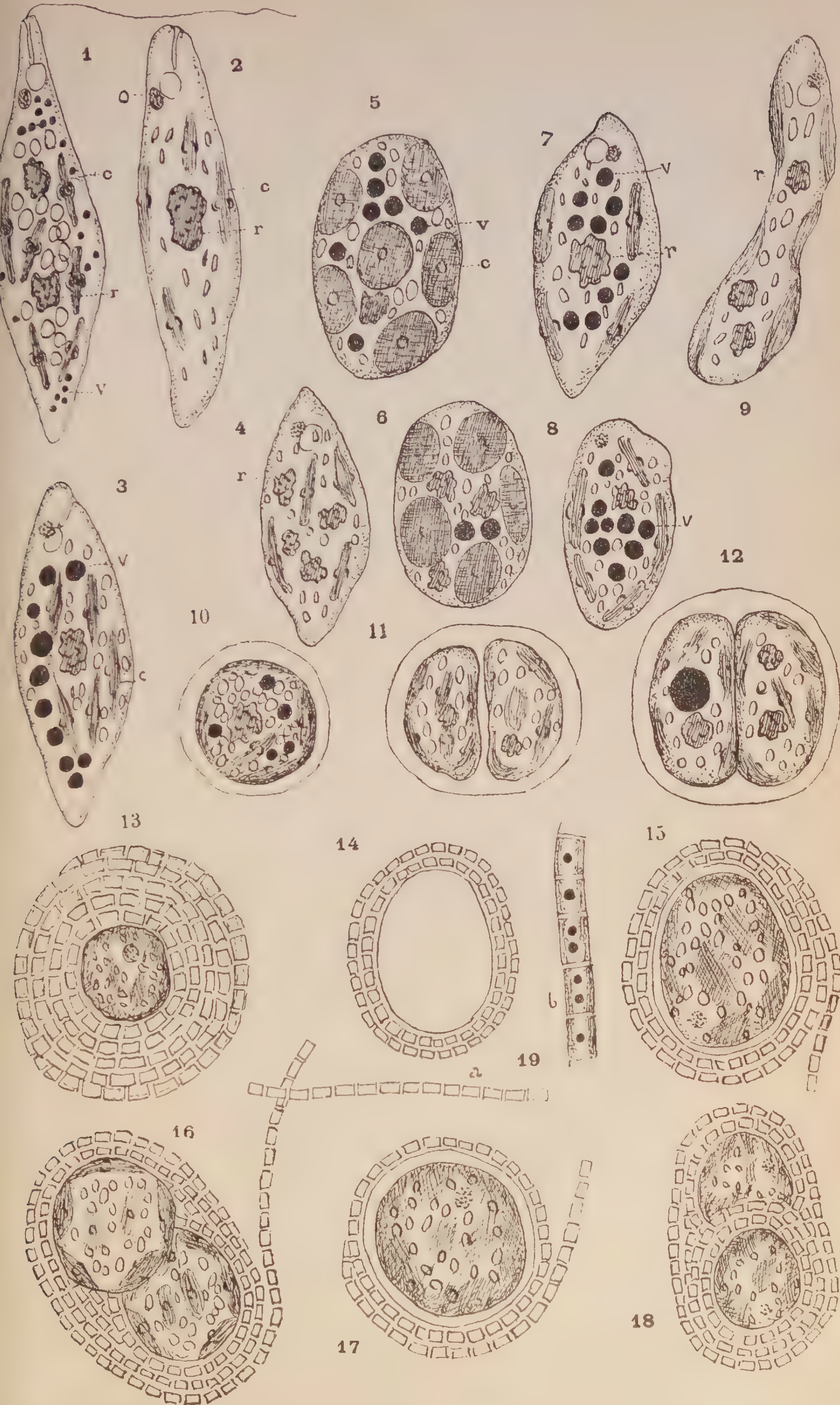

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
o
c
r
v
a
b

PLANCHE XXV

L'*Euglena viridis* (fig. 1-6).

FIG. 1 et 3. — La vacuome v est à l'état de petites chromidies nombreuses.
FIG. 2, 4, 5, 6. — Le vacuome comprend des sphères plus grosses en nombre réduit soit dans les individus à l'état d'activité, soit dans les colonies.

L'*Euglena pisciformis* (fig. 7-11).

FIG. 7. — Quelques vacuoles ordinaires dans une cellule de repos.
FIG. 8-11. — Le vacuome aux différents stades du développement.

L'*Euglena granulata* (fig. 12).

FIG. 12. — Le vacuome est formé par un certain nombre de sphérules superficielles.

L'*Euglena spirogyra* (fig. 13).

FIG. 13. — Le vacuome n'est représenté dans cet individu que par quelques rares sphérules.

L'*Euglena oxyuris* (fig. 14).

FIG. 14. — Extrémité antérieure de cette Euglène avec chromidies ordinaires à l'avant ; plus bas, vacuoles ordinaires avec endochromidies *v*.

L'*Euglena velata* (fig. 15-16).

FIG. 15. — Aspect en bâtonnet du vacuome sur un individu métabolique.
FIG. 16. — Le même aspect du vacuome, après bipartition sous une épaisse enveloppe.
La FIG. 17 est celle d'un Euglène indéterminée avec plastes superficiels et vacuoles situées plus intérieurement.

L'*Euglena splendens* (fig. 18).

FIG. 18. — La disposition du vacuome dans un individu arrondi en sphère ; les chromidies allongées en bâtonnet ou en navette sont orientées en spirale entre les rangs formés par les plastes.

Le *Phacus pleuronectes* (fig. 19).

FIG. 19. — Le vacuome est constitué par un nombre plus ou moins élevé de sphérules V ; P, plastes à contour arrondi.

Le *Phacus pyrum* (fig. 20).

FIG. 20. — Le nombre des sphérules du vacuome est peu élevé dans cette espèce.

Le *Phacus clavata* (fig. 21-22).

FIG. 21-22.— Le vacuome est très réduit dans cette espèce, ainsi que dans le *Crumenula Steinii* (fig. 23).


1
2
3
4
5
V'
V
V
V
V
V'
6
7
8
9
10
11
P
V
P
12
13
14
16
V
V'
V
P
S
C
V
V
N
V
17
V
P
19
P
V
15
C
18
C
P
20
F
V
V
P
21
22
23

INSTITUT DE FRANCE

ACADÉMIE DES SCIENCES

(Extrait des *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, t. 188, p. 1584, séance du 17 juin 1929.)

BOTANIQUE

Sur les phénomènes de symbiose chez le *Myrica Gale*.

Note de M. P.-A. Dangeard et Mme Mara Lechtova Trnka.

Le *Myrica Gale* L. est un arbuste qui se rencontre en quelques points de la région parisienne et qui affectionne les endroits humides : son appareil radiculaire présente cette particularité de posséder des renflements ou « tuberculoïdes » sur la nature desquels on a beaucoup discuté.

La formation de ces tubercules radicaux a donné lieu à de très nombreux travaux : on est d'accord, en général, sur le fait, que l'apparition de ces formations est due, comme chez les Légumineuses, à la présence d'un organisme microscopique qui envahit les tissus de la racine et y provoque ces déformations.

Mais sur la nature exacte de cet organisme les opinions diffèrent : pour les uns, il s'agit d'un champignon dont la description varie d'ailleurs avec les auteurs dans de très larges limites; certains le rapprochent des *Plasmodiophora*, d'autres le considèrent plutôt comme un mycète de structure filamenteuse, qu'ils rapportent au genre *Frankia*, alors que Shibata en fait un *Actinomyces*.

Nos observations nous permettent d'établir qu'il s'agit d'une Bactériacée qui se comporte à l'égard des racines de *Myrica* comme le font les diverses espèces de *Rhizobium* qui provoquent la formation des nodules radicaux chez les

Légumineuses : il n'en diffère que par quelques caractères que nous allons chercher à mettre en évidence.

Tout d'abord, il n'est pas inutile de spécifier que cet organisme n'a aucune parenté avec un véritable mycète qui se développe souvent en abondance dans les espaces intercellulaires de l'écorce des racines : celui-ci est un champignon septomycète dont les gros troncs mycéliens se ramifient en filaments plus fins : les articles, d'abord plurinucléés font place à des articles n'ayant qu'un seul noyau; certains de ces derniers sont renflés et courts, disposés en chapelets ; d'autres sont terminaux : ce champignon a pu être isolé en culture pure et sa description complète sera donnée ultérieurement par l'un de nous.

Dans cette note, nous n'aurons en vue que l'organisme qui détermine chez le *Myrica Gale* la production des tubercules radicaux : il s'agit incontestablement d'une Bactériacée.

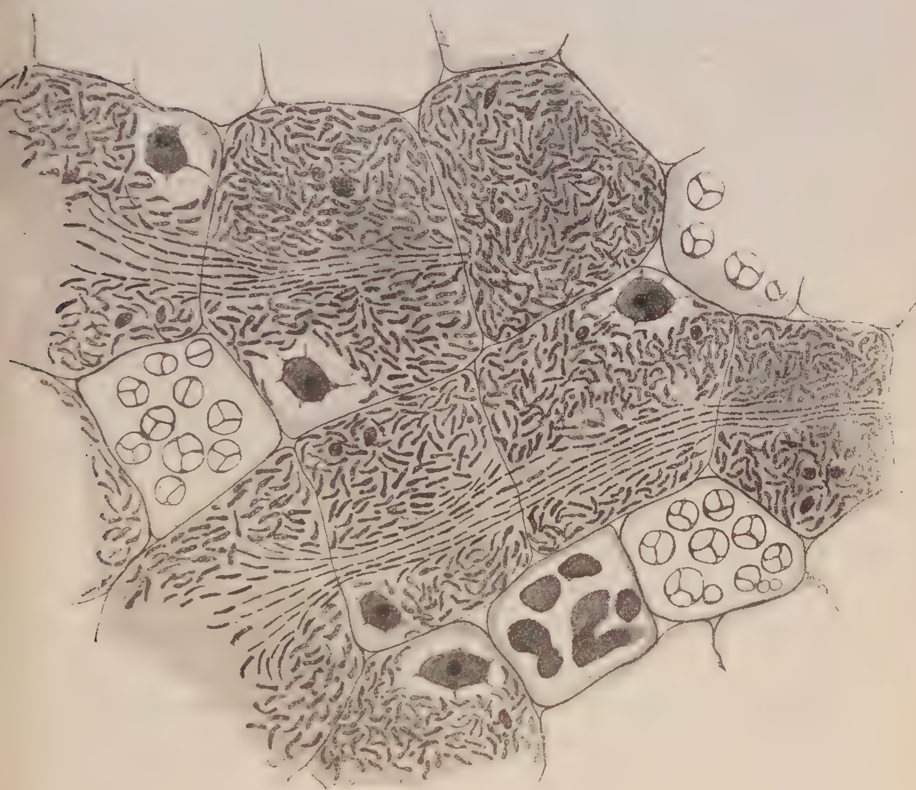
La raison principale que l'on peut invoquer à i'appui de cette détermination est qu'à aucun moment de son développement, l'organisme en quession ne montre trace d'élément nucléaire ; or, avec les ressources de la technique moderne, on est en mesure de déceler la présence des noyaux, même dans les champignons les plus inférieurs, mais, comme nous allons le voir, d'autres arguments provenant du développement viennent confirmer la conclusion tirée de la structure histologique.

La formation des tubercules, qu'ils soient concrescents ou qu'ils soient plus ou moins indépendants, est due à la prolifération des cellules corticales sous l'influence du parasite ; il se produit ainsi des régions de cellules contaminées, lesquelles entourent complètement le cylindre central ou bien sont localisées de façon variable.

L'étude des cellules parasitées est tout d'abord assez décevante : à côté de cellules qui renferment des éléments paraissant distincts, indépendants, on en trouve d'autres

qui montrent un peloton de filaments fins, que certains auteurs ont décrit comme une sorte de capillitium filamenteux.

Le premier aspect nous fait penser tout de suite au *Rhizobium* des Légumineuses : bâtonnets plus ou moins flexueux,



plus ou moins longs, souvent contournés de diverses façons, parfois recourbés en U, le tout réuni en un amas compact occupant tout ou partie de la cellule (voir la figure).

Le second aspect, d'apparence filamenteuse, était d'autant plus difficile à interpréter qu'il ne se voit guère facilement que dans les cellules où tout le contenu cytoplas-

mique a disparu : les tubes, devenus vides, conservent une membrane mince qui se colore avec certains réactifs, comme la sofranine, par exemple.

La difficulté n'a pu être résolue que par un examen très attentif du mode de contamination des cellules.

On sait que chez les Légumineuses, la contamination par le *Rhizobium* se fait par le moyen d'hyphoïdes, c'est-à-dire de zooglées filamenteuses qui contiennent ordinairement plusieurs files de Bactéries très petites et distinctes; arrivées dans les cellules, ces Bactéries se libèrent de la zooglée, se multiplient, grossissent et prennent l'aspect définitif qu'on leur connaît.

Or, dans la Bactériacée du *Myrica Gale*, les choses se passent autrement ; il n'existe pas de zooglées filamenteuses et de bâtonnets bactériens indépendants : ce sont des filaments fins, indépendants, isolés ou en groupes de trois ou quatre, disposés parallèlement, qui assurent la contamination ; on les voit traverser la paroi mince qui sépare les cellules, et l'on peut, comme pour le *Rhizobium*, suivre la pénétration successive au travers de plusieurs cellules contiguës.

Lorsque ces filaments sont jeunes, on s'aperçoit que le cytoplasme peut être continu sur un espace assez grand ou bien divisé en articles de longueur variable; nous avons affaire, par conséquent, à une Bactérie filamenteuse, laquelle, comme le *Bacillus subtilis* par exemple, est susceptible de se dissocier en éléments distincts : ces articles, qu'ils soient devenus indépendants ou qu'ils soient encore plus ou moins réunis, se multiplient et grossissent surtout à la périphérie de la cellule ; on observe même fréquemment une différence de diamètre très sensible entre les éléments du centre restés plus ou moins filamenteux et ceux qui occupent la périphérie du peloton où ils sont dissociés ; le prétendu capillitium filamenteux est tout simplement le squelette membraneux laissé par cette Bactériacée lorsque tout le contenu cytoplasmique a disparu.

On ne peut guère songer à placer cette Bactériacée dans le genre *Rhizobium*, bien qu'il existe certains points de rapprochement : le remplacement des hyphoïdes de nature si spéciale, dans le mode de contamination, par de véritables filaments qui se dissocient par la suite en articles, justifie, semble-t-il, la création d'un genre distinct : nous proposons pour lui le nom de *Rhizobacterium* et l'espèce sera le *R. Myricæ*.

Bien que nous ayons cru devoir, pour la raison indiquée, ne pas réunir cette espèce à celles qui font partie du genre *Rhizobium*, il n'en est pas moins exact que ses relations avec les cellules du *Myrica* rappellent de très près ce qui a lieu dans les tuberdules radicaux des Légumineuses.

Ainsi dans les régions contaminées, on distingue les cellules parasitées et les cellules intermédiaires : dans les premières, il s'est produit une hypertrophie, laquelle sans être aussi accentuée que chez certaines Légumineuses, peut atteindre cependant un volume deux ou trois fois supérieur à celui des cellules intermédiaires.

Ces cellules intermédiaires ainsi que celles qui bordent les régions contaminées sont en général complètement remplies de gros grains d'amidon, simples ou composés ; parfois, on rencontre d'autres cellules dont les vacuoles sont très riches en tannin.

Dans les cellules parasitées ou cellules spéciales, l'amidon se trouve à un état de digestion plus ou moins avancé ; autour du peloton bactérien on peut trouver une assise de gros corpuscules d'amidon encore intacts; d'autres fois, on remarque, à l'intérieur du peloton même, de tels grains amylacés réduits à l'état d'anneau ou de calottes ; enfin l'amidon peut avoir complètement disparu. Le parasite semble s'attaquer également aux tannins du vacuome, car il n'est pas rare de trouver dans ces cellules spéciales au milieu de l'entre-croisement des Bactéries, des traces de précipitation de ces tannins.

En ce qui concerne le noyau, il semble qu'il conserve jusqu'au bout sa vitalité, sans changement notable de volume ni de structure : il est d'ordinaire appliqué au contact de la membrane de la cellule; le nucléoplasme est homogène d'apparence, ainsi que le gros nucléole qu'il renferme. Le cytoplasme est fréquemment réduit à l'état de traces à peine perceptibles.

Par comparaison avec ce qui existe chez les Légumineuses (1) il n'est guère douteux que nous nous trouvions ici en présence d'un cas de symbiose bien caractérisé.

1. P.-A. Dangeard, *Recherches sur les tubercules radicaux des Légumineuses* (*Le Botaniste*. 16, 1926, p. 1-265, pl. I-XXVIII).

TABLE DES MATIÈRES

DE LA SÉRIE XXI DU BOTANISTE

Le Gérant : P. A. DANGEARD.

---

672. — Imp. Jouve et Cie, 15, rue Racine, Paris. — 1-1930